

Série A. N° 351
N° d'ordre : 375

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES

DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MENTION : SCIENCES

PAR

Erwin HEINTZ

Boursier de la Caisse Nationale de la Recherche Scientifique

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU SPECTRE
D'ABSORPTION INFRAROUGE DES PROTIDES

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 1937 devant la Commission d'examen

- 5 NOV 1937

MM. H. GAULT, *Président.*

E. DARMOIS } *Examineurs.*
AUBEL }

PARIS

VIGOT FRÈRES ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1937

Série A. N° 351

N° d'ordre : 375

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES

DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MENTION : SCIENCES

PAR

Erwin HEINTZ

Boursier de la Caisse Nationale de la Recherche Scientifique

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU SPECTRE
D'ABSORPTION INFRAROUGE DES PROTIDES

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le

1937 devant la Commission d'examen

MM. H. GAULT, *Président.*

E. DARMOIS }
AUBEL } *Examineurs.*

PARIS
VIGOT FRÈRES ÉDITEURS
23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1937

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire

M. MOLLIARD.

Doyen

C. MAURAIN Professeur, Physique du Globe.

Professeurs honoraires

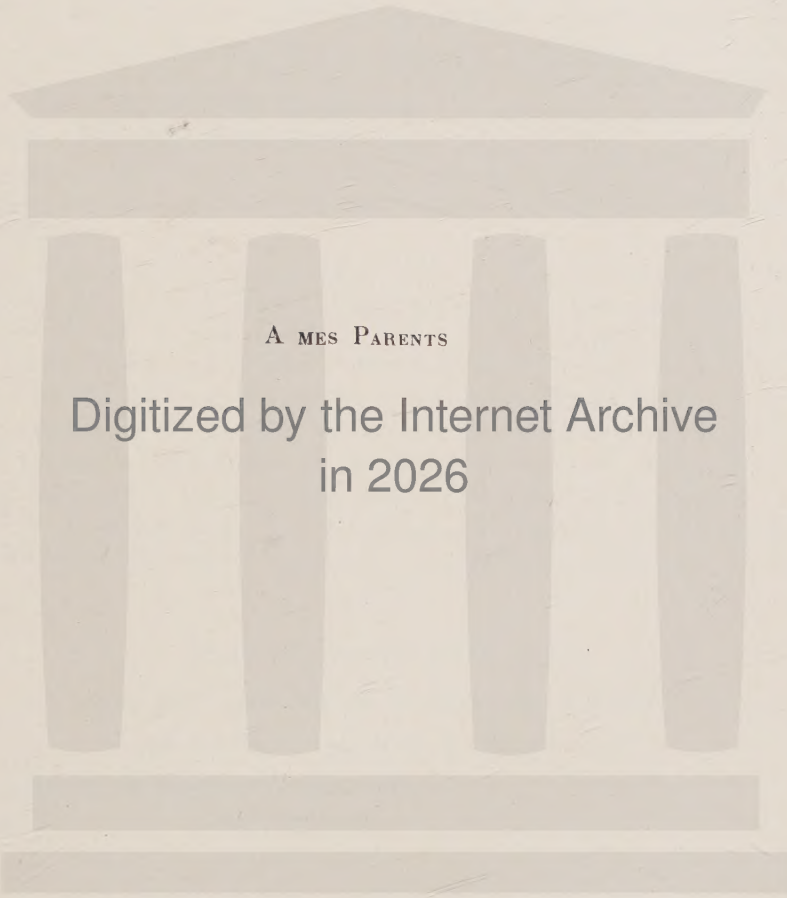
H. LE CHATELIER.	GOURSAT.	BLAISE.
H. LEBESGUE.	WALLERANT.	DANGEARD.
A. FERNBACH.	GUILLET.	J. JANET.
A. LEDUC.	PÉCHARD.	LESPIEAU.
Emile PICARD.	FREUNDLER.	MARCHIS.
Léon BRILLOUIN.	AUGER.	VESSIOT.

PROFESSEURS

G. BERTRAND	T Chimie biologique.	L. JOLEAUD	Paléontologie.
M. CAULLERY	T Zoologie (Evolution des êtres organisés).	ROBERT-LÉVY	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
G. URBAIN	T Chimie générale.	F. PICARD	T Mécanique des fluides et applications.
Emile BOREL	T Calcul des probabilités et Physique mathématique.	Henri VILLAT	T Géologie.
Jean PERRIN	T Chimie physique.	Ch. JACOB	T Chimie minérale.
H. ABRAHAM	T Physique.	P. PASCAL	T Calcul différentiel et Calcul intégral.
M. MOLLIARD	T Physiologie générale.	E. ESCLANGON	T Astronomie.
L. LAPICQUE	T Physiologie végétale.	M ^{me}	
A. COTTON	T Recherches physiques.	M ^{me} RAMART-LUCAS.	T Chimie organique.
J. DRACH	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	H. BÉGIN	T Mécanique physique et expérimentale.
Charles FABRY ..	T Enseignement de Physique.	Foch	Mécanique expérimentale des fluides.
Charles PÉREZ ...	T Zoologie.	PAUTHENIER	Physique (P. C. B.).
Léon BERTRAND ..	T Géologie structurale et géologie appliquée.	De BROGLIE	T Théories physiques.
P. PORTIER	T Physiologie comparée.	CHRÉTIEN	Optique appliquée.
E. RABAUD	T Biologie expérimentale.	P. JOB	Chimie générale.
M. GUICHARD	Chimie minérale.	LABROUSTE	Physique du Globe.
Paul MONTEL	T Théorie des fonctions et Théorie des transformations.	PRENANT	Zoologie.
P. WINTREBERT ..	T Anatomie et histologie comparées.	VILLEY	Mécanique physique et expérimentale.
L. BLARINGHEM ...	T Botanique.	BOHN	Zoologie (P. C. B.).
O. DUBOSQ	T Biologie maritime.	COMBES	Botanique (P. C. B.).
G. JULIA	T Mécanique analytique et Mécanique céleste.	GARNIER	T Mathématiques générales.
C. MAUGUIN	T Minéralogie.	PÈRES	Mécanique théorique des fluides.
A. MICHEL-LÉVY ..	T Pétrographie.	HACKSPILL	Chimie (P. C. B.).
H. BÉNARD	T Mécanique expérimentale des fluides.	LAUGIER	T Physiologie générale.
A. DENJOY	T Application de l'analyse à la Géométrie.	TOUSSAINT	Technique aéronautique.
L. LUTAUD	T Géographie physique et géologie dynamique.	M. CURIE	Physique (P. C. B.).
Eugène BLOCH ...	T Physique théorique et physique céleste.	G. RIBAUD	T Hautes températures.
G. BRUHAT	Physique.	CHAZY	T Mécanique rationnelle.
E. DARMOIS	Enseignement de Physique.	GAULT	Chimie (P. C. B.).
A. DEBIERNE	T Physique générale et radio-activité.	CROZE	Recherches physiques.
A. DUFOUR	T Physique (P. C. B.).	DUPONT	T Théories chimiques.
L. DUNOYER	Optique appliquée.	LANQUINE	Géologie.
A. GUILLIERMOND.	T Botanique.	VALIRON	Mathématiques.
M. JAVILLIER	Chimie biologique.	BARRADÉ	Géologie structurale et géologie appliquée.
		MILLOT	Zoologie (P. C. B.).
		F. PERRIN	Théories physiques.
		VAVON	Chimie organique.
		G. DARMOIS	Calcul des Probabilités et Physique-Mathématique.

Secrétaire A. PACAUD.
Secrétaire honoraire D. TOMBECK.





A MES PARENTS

Digitized by the Internet Archive
in 2026

A M. H. GAULT,

Professeur à la Faculté des Sciences de Paris

qui m'a fait l'honneur d'accepter
la présidence de cette thèse.

A M. LE PROFESSEUR F. VLÈS,

*Directeur de l'Institut de Physique biologique
de la Faculté de Médecine de Strasbourg.*

Hommage respectueux de très vive
reconnaissance.

PRÉFACE

Le présent travail expose les propriétés spectrales infra-rouges d'un certain nombre de protéines. Le sujet m'a été inspiré par M. le Prof. F. VLÈS et a été exécuté sous sa direction entre 1933 et 1937 à l'Institut de Physique biologique de la Faculté de Médecine de l'Université de Strasbourg. Je voudrais exprimer ici à ce grand savant toute ma gratitude profondément sentie et le remercier pour tout ce que j'ai pu apprendre auprès de lui dans le domaine de la Science et pour l'intérêt qu'il a bien voulu me témoigner.

J'exprime ma reconnaissance à M. le Prof. H. GAULT, de la Faculté des Sciences, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant la présidence de cette thèse. Je remercie M. le Prof. E. DARMOIS et M. E. AUBEL, maître de Conférences de la Faculté des Sciences de Paris de la bienveillance que j'ai trouvée auprès d'eux.

Je remercie M^{lle} M. GEX, M^{lle} G. ACHARD, assistantes à l'Institut de Physique biologique et M. le Prof. agr. P. REISS pour leur aimable appui, et suis particulièrement reconnaissant à M^{lle} S. KREIMER, Ing. I. C. S. attachée à l'Institut de Physique biologique, pour son aide pour la préparation des solutions.

INTRODUCTION

L'étude de l'absorption dans l'infrarouge est pour le chimiste, comme pour le physicien biologiste, d'un très gros intérêt. On sait en effet que c'est ce domaine spectral surtout qui permet d'avoir une notion sur la nature des *groupements moléculaires* de beaucoup de substances organiques. Or si, depuis les premières investigations d'ABNEY et FESTING (1881), de très nombreux corps organiques ont été étudiés, nous n'avons à l'heure actuelle qu'un petit nombre de renseignements, d'ailleurs souvent limités au proche infrarouge, sur les substances biologiques. Les documents que nous possédons n'ont porté pour la plupart que sur des systèmes compliqués : tissus humains ou animaux (nous renvoyons pour la bibliographie, à la seconde partie du présent travail); mais, parmi les substances définies, seuls ont été abordés jusqu'à présent la gélatine (COBLENTZ) (8), l'oxyhémoglobine (HARTRIDGE et HILL) (v. p. 29) et le glycocolle (FREYMAN (13)). L'énorme étude des protéides et des acides aminés est par conséquent presque totalement à faire, c'est dans cette direction que nous avons entrepris notre travail.

Cette recherche nous a tout d'abord demandé la mise au point d'un dispositif d'absorption d'infrarouge. A l'Institut de Physique biologique nous avions à notre disposition un spectromètre à sel gemme, construit sur les indications de M. F. VLÈS, par la Maison JOBIN-YVON. Il nous restait à installer les pièces accessoires : source, enregistrement, etc., et à établir une technique permettant de poursuivre les investigations jusqu'à des longueurs atteignant même 15 μ . Ceci réalisé, nous avons ensuite appliqué cette méthode à l'établissement des spectres d'une trentaine de substances, acides aminés et protéides.

En dehors de ce point expérimental, il s'est posé, au cours de nos recherches, un problème d'ordre théorique. Cherchant une liaison entre diverses constantes physico-chimiques, M. VLÈS avait trouvé une relation simple entre le spectre d'absorption infrarouge d'une substance chimique et les constantes de dissociation des différentes valences de celle-ci. Ce même auteur avait donné, en outre, un procédé de calcul des séries de bandes infrarouges à

partir de la structure chimique. Nous avons confronté ces données théoriques avec nos résultats expérimentaux, et avons nous-même établi un calcul plus complet des séries.

Dans une première partie de notre travail, nous indiquerons les techniques de mise au point de notre dispositif, et les méthodes de mesure. Dans une deuxième partie nous décrirons les spectres infrarouges des substances étudiées : protéines, acides aminés et autres. Dans une troisième partie nous comparerons la formule de M. VLÈS à nos résultats, et y ajouterons les séries trouvées par nous. Nous montrerons enfin que certaines d'entre ces séries se poursuivent jusque dans l'ultraviolet.

PREMIERE PARTIE

INSTRUMENTS ET METHODES

1) **Spectromètre.** — Le spectromètre employé a été construit, sur les indications de M. VLÈS, par JOBIN et YVON (Paris). Il comporte un dispositif de WADSWORTH : un prisme P (fig. 1) en sel gemme, monté sur une plate-forme tournante qui porte un miroir plan doré M_3 . L'ensemble assure le minimum de déviation à la fois pour toutes les longueurs d'onde.

Le faisceau émanant de la source N tombe d'abord sur une lentille en sel gemme A (foyer de 8 cm. pour $\lambda = 0,589$) recouverte d'une très minime couche de collodion, et qui forme l'image de la source sur la fente F. Cette fente a deux joues réglables au 1/100 de millimètre.

Le système optique intérieur du spectromètre est constitué par deux miroirs dorés concaves M_1 et M_2 , de 50 cm. de distance focale et de 5 cm. de diamètre, dont le réglage s'effectue par trois vis à ressort. Le prisme (angle de 60° , hauteur 4,5 cm. longueur 5 cm.) est en sel gemme et protégé contre l'humidité par une couche extrêmement mince, déposée à sa surface, de collodion dissous dans l'acétate d'amyle, et par du chlorure de calcium placé à son voisinage. Un tambour extérieur R, gradué en angles-longueurs d'onde (tambour spiralé JOBIN-YVON), mû par un moteur électrique avec démultiplication, commande la rotation de la plate-forme, et permet de faire défiler successivement toutes les longueurs d'onde devant l'appareil récepteur. Les graduations du tambour, calculées à partir des indices de PASCHEN, sont inscrites sur une spirale d'un développement d'environ 1,20 m., et s'étendent de $0,5790 \mu$ (raie jaune de Hg) jusqu'à $18,5 \mu$.

Le réglage du prisme se fait au moyen d'un prisme accessoire P_1 en verre, livré par le constructeur avec le spectromètre. On vérifie que le prisme de sel gemme est correctement placé si,

en lui juxtaposant P_1 comme l'indique la fig. 2, et en amenant le repère de longueurs d'onde du tambour sur $\lambda = 0,589 \mu$ (raie jaune du Na), le faisceau issu de la fente F et réfléchi sur M_1 subit l'autocollimation sur P_1 .

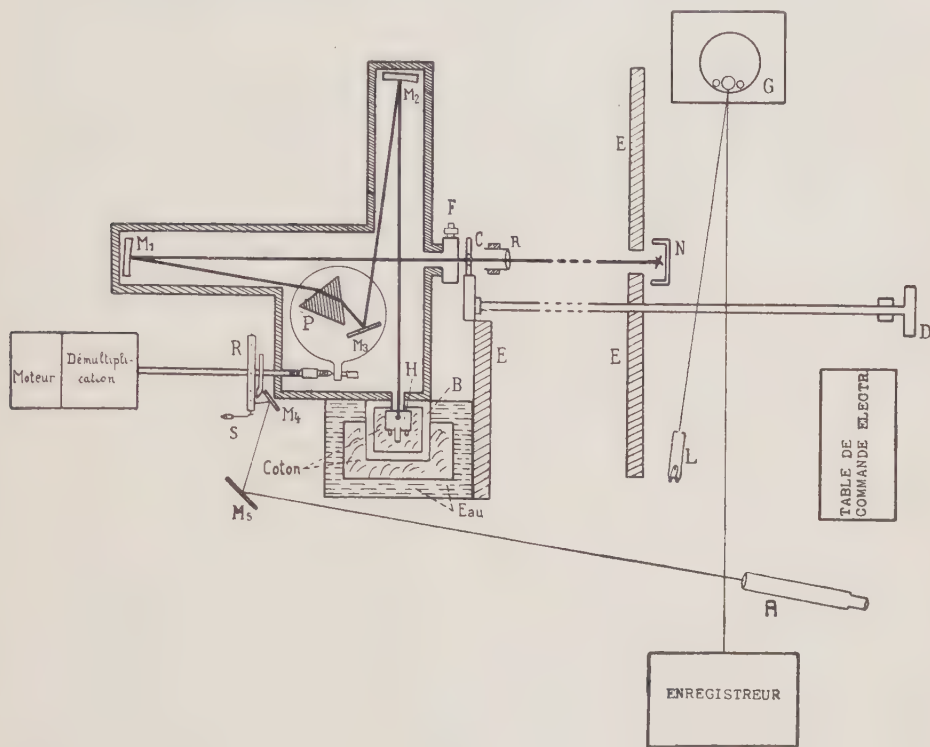


FIG. 1. — Plan général du dispositif (lettres dans le texte).

2) **Appareil récepteur.** — Les radiations sortant du spectromètre sont reçues sur une pile thermoélectrique Zeiss H (fig. 1) à cinq soudures enfermées dans une boîte métallique qui porte une fente réglée à une largeur constante de 0,8 mm.

Le réglage de position de la pile est correct lorsque la radiation qui tombe sur les soudures a justement la même longueur d'onde que celle indiquée par le tambour. Une petite lunette adjointe à la pile permet d'observer la radiation qui entre dans la pile. Nous avons effectué un premier réglage au moyen des raies jaunes du Hg. Or on sait que tout décalage léger dans le visible entraîne une erreur considérable dans les grandes longueurs d'onde ; nous avons donc dû effectuer un contrôle de notre premier réglage pour le visible au moyen d'une radiation infrarouge. A cet effet

nous avons eu recours au bec Auer, lequel émet un système complexe de radiations décomposables en plusieurs sommets (TROMBRIGE et WOOD. — *Phil. Mag.* 20, 898, 1900) mais qui, en raison de la faible dispersion du sel gemme de notre appareil, se fusionnent en ne permettant de déceler qu'un seul maximum à $4,40 \mu$.

L'*isolement thermique* de la pile exige des précautions spéciales. Nous avons observé qu'un enveloppement par une couche de coton de $\frac{1}{4}$ cm. placée à l'intérieur d'une caisse de bois B est tout à fait insuffisant, et qu'après une heure il se produit un déplacement du spot du galvanomètre de 5 à 6 cm. Pour calorifuger plus parfaitement, nous avons placé notre caisse B dans une étuve à eau (étuve histologique) garnie intérieurement d'une couche de coton (fig. 1). Dans ces conditions, ayant allumé la

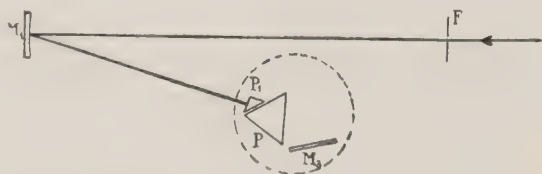


FIG. 2. — Réglage du prisme (Dispositif JOBIN et YVON).

lampe Nernst, et attendu le temps nécessaire pour l'équilibre du système (1 heure environ), nous avons constaté que les variations du spot n'ont jamais dépassé 10 à 15 mm. au bout de deux heures. Ce résultat n'est évidemment obtenu, que si la température du laboratoire ne varie pas dans des limites supérieures à 2° . L'avantage du thermostat à eau est que l'observateur peut se rapprocher ou même rester à proximité de l'appareil sans influencer la pile.

3) **Galvanomètre.** — Le galvanomètre est du type Zernike Zc (MOLL), d'une période de 7 sec. Sa sensibilité, que nous avons mesurée, est de $1,4 \cdot 10^{-9}$ par mm. d'élongation, l'échelle étant à 1 m. de distance. Pour obtenir un zéro stable, toute une série de précautions sont indispensables. Il est de première importance de soustraire les connections pile-galvanomètre aux actions perturbatrices des champs magnétiques du voisinage. Pour cette raison les fils de liaison doivent être entortillés et avoir la longueur la plus courte possible. Nous avons opéré avec un câble sous plomb à fils entortillés, dont la longueur a été environ de 1 m. 50. Câble et spectrographe ont été mis à la terre. Enfin les bornes du galvanomètre ont été calorifugées par du coton. Dans ces condi-

tions, en disposant l'enregistreur à 1 m. 50 du galvanomètre, les variations du spot sont restées inférieures à $1/3$ mm.

4) **Source de radiations.** — Au début de nos recherches nous avons utilisé le bec Auer, qui se recommande par son emploi facile et son émission sensiblement constante lorsque le régime est établi. Il a d'autre part, une forte émission due au gaz carbonique aux environs de $4,40 \mu$. Nous l'avons cependant abandonné au profit de la lampe NERNST, dont l'émission est beaucoup plus forte. Nous avons utilisé deux de ces lampes à 1,25 et 2 ampères sur courant continu 125 volts. La constance du courant a été contrôlée par un ampèremètre.



FIG. 3. — Spectre d'émission de la Source de radiation.

Nous avons ensuite réalisé nous-mêmes (17) une nouvelle source d'infrarouge puissante surtout pour les grandes longueurs d'onde

dépassant $8\ \mu$. Elle est constituée par un fil spécial en Nichrome capable d'être chauffé électriquement à 1400° en atmosphère libre. Il est enroulé en spirale sur un support en terre. Pour empêcher un rayonnement nuisible dans la pièce où se font les expériences, la lampe est entourée d'un réfrigérant à courant d'eau. Le spectre d'émission (fig. 3) a un maximum vers $2,1\ \mu$ et est utilisable jusque vers $15\ \mu$. Les différentes parties du spectre ($0,9-6,7\ \mu$; $5,3-12,1\ \mu$; $9,9-15,5\ \mu$) ont été prises avec des largeurs de fente respectives de $0,04$; $0,4$ et $0,8\ \text{m/m}$. Le spectre est continu et se rapproche de l'émission du corps noir; dans les présentes mesures, la lampe se trouvant à $50\ \text{cm}$. de la fente du spectrographe, on a décelé, superposé au spectre d'émission, toutes les bandes du CO_2 et de la vapeur d'eau se trouvant dans la chambre d'expérience (marquées au bas de la figure).

5) **Cuves.** — Les cuves destinées à contenir les solutions sont constituées de deux joues transparentes (fig. 4) (lames de mica blanc a et a' , $1,5 \times 1,5\ \text{cm}$., collées au baume sur le pourtour d'un trou circulaire de $13\ \text{mm}$. taillé dans une lame de verre) appliquées sur un cadre interne de mica b d'épaisseur désirée. La grande opacité à l'infrarouge de nos substances, et, dans la région de 2 à $8\ \mu$, celle de l'eau des solutions, nous ont contraint à construire des cuves très minces : de $0,01$ à $0,1\ \text{mm}$. Une épaisseur aussi minime ne pouvant être réalisée qu'avec une cuve dé-

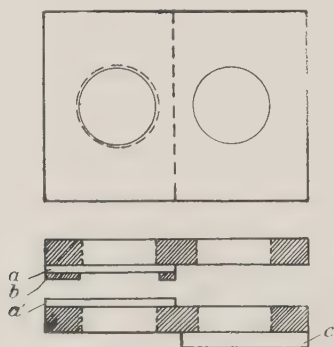


FIG. 4. — Cuve d'absorption.

montable, nous n'avons fixé le cadre b que sur l'une des joues, et appliqué l'autre joue contre lui par simple serrage entre deux vis. Quant à la *cuve témoin*, elle n'a comporté qu'une seule paroi : une lame de mica c , d'épaisseur égale à la somme de celles de a et a' collée sur un trou circulaire pratiqué dans le support

de verre d'une des joues de la *cuve-solution*. Les trois lames a , a' , c , devant être aussi semblables que possible, on taille deux lames dans un même morceau de mica, l'une constitue la lame c , l'autre, dédoublée dans son épaisseur, constitue les lames a et a' . Enfin

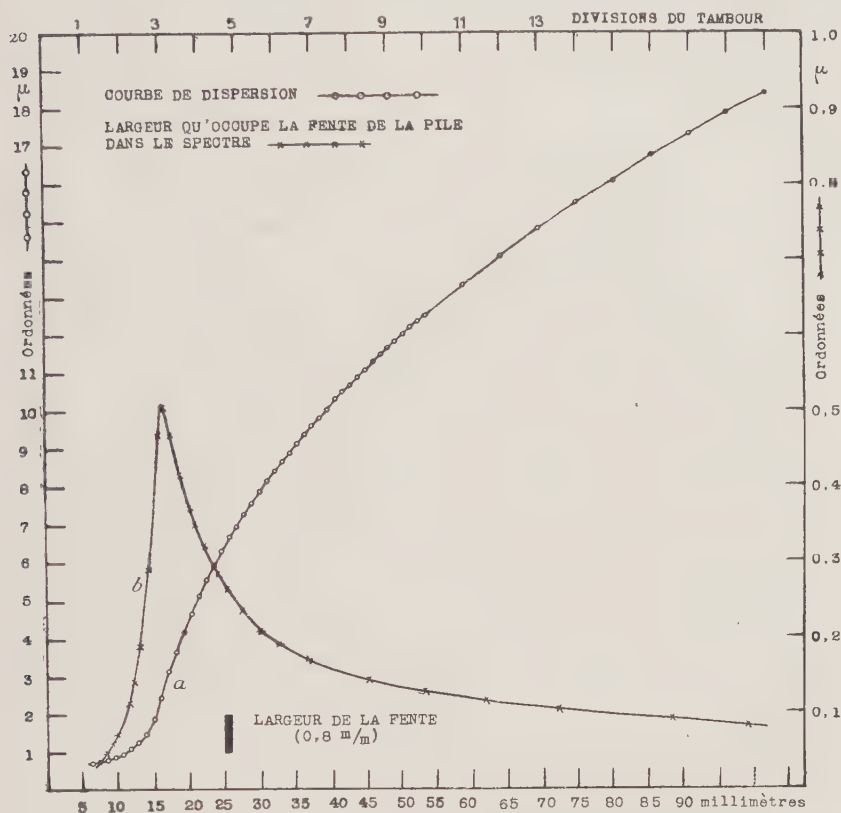


FIG. 5. — Courbe de dispersion du sel gemme et place qu'occupe la fente de la pile dans le spectre.

le collage est réalisé de telle façon que les axes optiques des trois lames soient parallèles. Quant au cadre b , il importe qu'il ne présente pas de bavures sur ses bords internes. Dans une lame de mica d'épaisseur supérieure à celle désirée, on taille au compas à pointe sèche un trou circulaire. Le cadre ainsi obtenu est clivé dans son épaisseur jusqu'à la valeur voulue.

Pour l'observation du spectre, l'ensemble est placé dans une glissière située à quelques millimètres de la fente du spectrographe. Une commande à distance D permet de faire défiler successivement chacune des cuves ainsi qu'un obturateur.

6) **Etude des solides.** — Dans ce cas, nous avons produit une lame sèche de substance déposée, soit par évaporation sur une lame de mica, soit par fusion entre deux lames de mica (pour l'étude des radiations supérieures à $8\ \mu$, nous avons un support de sel gemme au lieu de mica). On retranchait du spectre l'absorption propre du mica en ménageant sur celui-ci une partie non couverte qui servait de témoin.

7) **Appareil enregistreur.** — L'enregistrement du spot du galvanomètre se fait sur un papier photographique enroulé sur un cylindre de 14 cm. de largeur et de 10 cm. de diamètre mû par un mouvement d'horlogerie à frein magnétique (cylindre Chauvin-Arnoux). Le tout est placé dans une caisse percée d'une fente linéaire. La distance entre l'enregistreur et le miroir du galvanomètre a été, selon les cas, de $1\text{ m. }50$ ou de $4\text{ m. }50$. Un système de commande permet d'entraîner l'enregistreur, soit seul, soit solidairement avec la plate-forme du prisme.

8) **Marche des opérations.** — Le cylindre enregistreur étant immobilisé, on détermine successivement pour une longueur d'onde donnée, 1°) le zéro du galvanomètre, en obturant la fente du spectrographe; 2°) la déviation I_0 , en substituant la cuve témoin à l'obturateur; 3°) la déviation I en interposant à la place de celle-la la cuve-solution.

Ces déterminations étant effectuées pour une longueur d'onde donnée, on fait défiler le spectre par mise en marche des moteurs de commande du prisme et de l'enregistreur, et on les immobilise de $0,1\ \mu$ en $0,1\ \mu$ pour effectuer chaque fois les déterminations de zéro, I_0 , et I . En pratique le zéro varie lentement, il suffit de le déterminer de $\frac{1}{2}\ \mu$ en $\frac{1}{2}\ \mu$.

L'enregistrement d'un spectre de $0,7$ à $8\ \mu$ demande de $1\text{ h. } \frac{1}{2}$ à 2 heures.

9) **Lecture du cliché photographique.** — Il suffit de lire les déviations I et I_0 produites pour chacun des $0,1$ de μ , de ces valeurs on tirera les variations de la transmission I/I_0 du liquide étudié.

10) **Corrections.** — On peut penser *a priori* que deux facteurs vont intervenir comme cause d'erreur. D'une part les réflexions sur les parois extérieures de la cuve, et d'autre part les réflexions intérieures sur la limite de séparation des surfaces mica-liquide et liquide-mica. Les premières sont retranchées automatiquement par

la comparaison à la cuve-témoin. Quant aux secondes, on peut les calculer par la formule de FRESNEL :

$$R = \left(\frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2} \right)^2$$

et nous avons vérifié qu'elles étaient négligeables ($< 1 \%$).

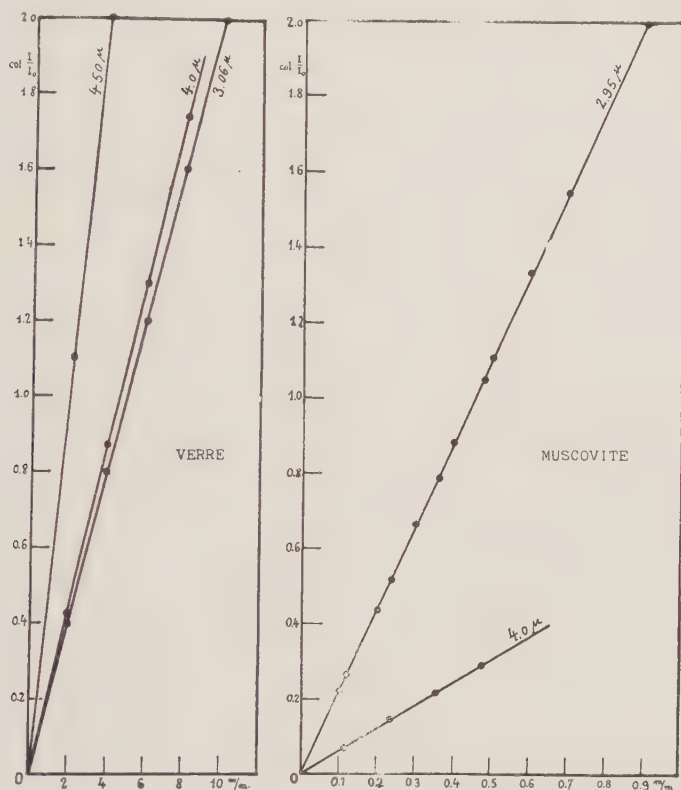


FIG. 6. — Vérification de la loi de Lambert pour le verre et la muscovite.

11) **Précision sur la position des bandes d'absorption dans les différentes régions spectrales.** — En raison de la dispersion du sel gemme, la fente de la pile thermoélectrique découpe dans le spectre une plage de radiations $\Delta \lambda$ dont l'étendue dépend de la longueur d'onde. Nous avons été ainsi conduit à déterminer la dispersion linéaire du spectre dans le plan de la fente de la pile. Dans ce but, nous avons d'une part construit empiriquement la courbe de dispersion angulaire (fig. 5, courbe a), en donnant au prisme une rotation d'un angle connu et en lisant sur le tambour le λ correspondant. D'autre part, sur une plaque photographique,

disposée dans le plan de la fente de la pile, nous avons enregistré les positions d'une radiation (raie jaune du Hg = $0,5790 \mu$) atteintes pour différents angles ; et nous avons ensuite mesuré en millimètres le déplacement produit en fonction de la rotation. Dans ces conditions, la largeur de la fente étant e , elle correspond à un angle α par l'intermédiaire duquel nous avons pu lire sur la courbe de dispersion angulaire la variation $\Delta \lambda$ correspondant à un λ donné. La courbe b (fig. 5) exprime $\Delta \lambda$ en fonction de la longueur d'onde. $\Delta \lambda$, en μ , vaut $0,05$ à $\lambda = 1 \mu$; il passe ensuite par un maximum, $0,63$, pour λ voisin de $2 \mu, 7$; et tombe enfin à $0,2$, pour λ voisin de 8μ . Il résulte de ces données que la détermination de la position des bandes d'absorption est de précision inégale aux différentes longueurs d'onde, et qu'elle est le moins correcte dans la région $2,7 \mu$.

1° **Contrôle de réglage du dispositif.** — Nous avons vérifié le bon réglage de l'ensemble de notre dispositif en étudiant la loi de LAMBERT $I/I_0 = 10^{-Kd}$ avec le verre et le mica muscovite (fig. 6), substances non étudiées avant nous à ce point de vue.

Le *mica muscovite* a été prélevé dans l'échantillon même qui nous a servi pour la confection des cuves. Nous avons réalisé des épaisseurs différentes par superposition de lamelles taillées dans un même morceau. Nous avons vérifié la loi de LAMBERT (fig. 6) au sommet de la bande d'absorption de l'eau de combinaison ($\lambda 2,95 \mu$), et à l'un des minima d'absorption ($\lambda = 4,0 \mu$).

Comme verre (fig. 6) nous avons utilisé des lamelles de *verre blanc ordinaire* (plaques photographiques) de 2 mm. d'épaisseur que nous avons empilées jusqu'à une épaisseur de 1 cm. (absorption de 99%). Nous avons choisi comme longueurs d'onde : $\lambda 3,6 \mu$; $4,0 \mu$ et $4,50 \mu$.

Les résultats portés dans la figure 6 vérifient très correctement, comme on le voit, la loi de LAMBERT. Ils nous montrent en outre que notre dispositif est susceptible de se prêter à des mesures quantitatives.

DEUXIEME PARTIE

LES SPECTRES DES PROTIDES

I. HISTORIQUE

Avec l'appareil et le dispositif décrits dans la première partie, nous avons étudié un certain nombre de protides, notamment des protéines, des acides aminés et quelques substances biologiques brutes. De tous ces corps, les données au point de vue des spectres d'absorption infrarouge étaient à peu près inexistantes.

ASHKINASS (3) a étudié l'absorption infrarouge des différents milieux de l'œil humain et d'un œil de Bœuf. HARTRIDGE et HILL ont étudié dans le très proche infrarouge, jusque $1,35 \mu$, l'oxyhémoglobine et le carboxyhémoglobine (v. p. 29). COBLENTZ (8) donne le spectre d'absorption d'une gélatine ordinaire jusqu'à 9μ et le spectre de la chimie provenant de Papillons de couleurs différentes. W. E. PAULI et I. IVANCERIE (27) en 1927 sont les premiers à étudier le spectre infrarouge de la peau humaine et de peaux d'animaux (Lapin). Leurs spectres s'étendent de $0,58 \mu$ à 1μ environ.

W. E. PAULI (28) cherche à rendre la peau humaine plus transparente pour l'infrarouge et le visible. Il arrive à des résultats négatifs en imprégnant la peau de colorants inoffensifs ou par des injections intracutanées de solutions de NaCl. Des résultats positifs, avec un maximum de transparence dans l'infrarouge, sont obtenus en badigeonnant la peau avec de l'huile ou de la glycérine. L'auteur explique ce phénomène par le fait que l'huile ou la glycérine diminuent l'effet de diffusion de la lame trouble que présente la peau.

CH. CARTWIGH (5) indique que la peau de la joue transmet environ 14 % avec un maximum de transmission à $1,15 \mu$ (20 %). Les mesures ne s'étendent pas au-delà à cause de l'opacité de l'eau. O. GAERTNER (14) arrive à des résultats analogues.

Tous ces travaux sur la transmission de la peau ne donnent que

des indications générales, étant donné que les mesures ont été faites à des intervalles de longueurs d'onde extrêmement éloignées. A. R. PEARSON et NORRIS (29) étudient la couche cornée de la peau humaine jusqu' à 5 μ et leurs mesures vont de dixième en dixième de μ . Ils comparent ce spectre à celui de la cellophane qui lui est assez analogue.

Dans les travaux de RÜCKER (31) on trouve une série d'indications sur l'absorption infrarouge de Crustacés.

Comme nous l'avons déjà indiqué, les données sur l'absorption infrarouge des acides aminés sont presque inexistantes, surtout pour des longueurs d'onde dépassant 1,5 μ , M^{me} FREYMANN, MM. R. FREYMANN et P. RUMPF (13) étudient la bande de structure complexe située vers 1,04 μ de dérivés ammoniacaux (bande NH ou NH₂) et arrivent à la conclusion qu'un effet de dissimulation se présente pour tous les composés où l'azote est tétracoordonné. Pour les corps qui nous intéressent spécialement, ils ont étudié quelques dérivés aminés : du chlorhydrate d'hydrazine et d'hydroxylamine, corps qui ne présentent pas la bande NH vers 1,04 μ ; tandis que pour ces mêmes corps non chlorhydratés cette bande est très intense. Le glyocolle et la taurine ne présentent pas la bande NH, tandis que le glycollate de sodium et la taurine après introduction d'une base (lithine) montrent cette bande. Les mesures s'étendent de 0,8 à 1,2 μ environ.

Nous-mêmes (VLÈS et HEINTZ ; HEINTZ, 1935/7) (43) (47) (16) avons étudié pour la première fois le spectre d'absorption infrarouge d'une série de protéines (sérumalbumine, excelsine, édestine et caséine), d'acides aminés (glyocolle, alanine, leucine, acide glutamique, arginine, cystine, cystéine, proline, tyrosine et phénylalanine), et de quelques polypeptides.

II. DEFINITION ET CLASSIFICATION DES PROTIDES

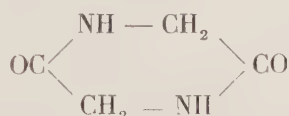
La Commission internationale de Varsovie en 1927 a proposé pour les Protides la définition suivante : « Le terme de *Protide* englobe actuellement les acides aminés naturels et tous les composés (peptides et protéides — ou mieux protéines) donnant par hydrolyse un ou plusieurs de ces amino-acides.

« Le nom de *Peptides* est réservé aux produits (naturels ou synthétiques) formés par l'union de plusieurs acides aminés et dans lesquels la liaison a lieu par perte d'une molécule d'eau entre un groupement aminé d'une molécule et un groupe carboxyle appar-

tenant à la molécule suivante : R -CO-NH-R. Cette liaison est dite peptidique et on distingue les di-tri-tétra-peptides.

Le terme général de Protéides ou Protéines, s'applique à tous les autres protides qui se subdivisent en *holoprotéides* ou *holoprotéines*, qui ne donnent par hydrolyse que des acides aminés, et en *hétéroprotéides* ou *hétéroprotéines* qui contiennent, en outre, des éléments non protidiques, désignés sous le nom de « groupes prosthétiques » ».

La structure moléculaire des protéines présente encore des points douteux, quoiqu'on ait fait beaucoup de progrès dans ce domaine. Suivant E. FISCHER la molécule protéique est constituée par des chaînes d'acides aminés unis par des liaisons peptidiques : -CO-NH. ABDERHALDEN a développé et défendu une constitution cyclo-peptidique, où le groupement constitutif essentiel serait la dicétopipérazine :



La théorie de TROENSEGAARD diffère essentiellement des précédentes : les acides aminés ne préexistent pas dans la molécule protéique. Celle-ci est constituée par un assemblage d'atomes de C et N, figurant des noyaux hétérocycliques, presque toujours de nature pyrrolique et porteurs d'oxhydriles. La juxtaposition de trois groupements pyrroliques donne lieu à la formation de noyaux benzéniques. Les amino-acides, les peptides prennent naissance au cours de l'hydrolyse par rupture des noyaux en des points variables.

Le tableau ci-dessous donne la classification des protides. En face des différentes classes sont marquées les substances dont nous avons étudié le spectre d'absorption infrarouge. Les colonnes suivantes donnent les constantes physico-chimiques : points isoélectriques et pK (nomenclature classique).

CLASSIFICATION DES PROTIDES

		Substances étudiées	Points iso-électriques pHi	pK _A	pK _B	Origine des Déterminations des pHi et des pK
Protéines	I. Holoprotéines					
	a) Protamines.					
	b) Histones.					
	c) Prolamines.					
	d) Glutélines et Gliadines.					
	e) Albumines.	Sérumalbumine. ... (Boeuf)	4,7	6,40	(1) 4,3 (2) 3,3	pK d'après Miss Lloyd
	f) Globulines.	Excelsine..... Edestine.....	4,8 6,73			Michaelis et Davidson
	Holoprotéines dégénérées.					
	a) Scléroprotéines.					
	b) Collagènes et kératines.	Gélatine.....	4,7			Loeb
	II Hétéroprotéines.					
	a) Glycoprotéines.					
	b) Phosphoprotéines.	Caséine	4,3			P. Rona et Michaelis
	c) Nucloprotéines.					
	d) Chromoprotéines.	Oxyhémoglobine... (Cheval)	6,7			Michaelis et Davidson
Acides aminés	III. Polypeptides.					
	a) Peptones.	Peptone de Witte.. Peptone de soie... Peptone Merck...				
	b) Albumoses.	Albumose de caséine..... Albumose de Bence-Jones.....				
	I. Acides monoaminés.	Glycocolle..... Alanine..... Leucine.....	6,08 6,04 6,00	9,64 9,70 9,60	2,33 2,33 2,36	
	II. Acides aminés dicarboxylés.	Acide glutamique.. Acide aspartique..	3,2 2,8	(1) 4,22 (2) 9,60 (1) 3,70 (2) 9,70	2,15 2,0	
	III. Acides diaminés.	Arginine..... Lysine.....	9,0 9,9	9,7 10,52	2,17 (1) 2,0 (2) 9,7	
	IV. Acides aminés hétérocycliques.	Proline.....	6,3	10,6	2,0	Toutes les valeurs d'acides aminés d'après P. L. Kirck et Schmidt (21)
	V. Acides aminés à noyau benzénique.	Phénylalanine..... Tyrosine.....	5,4 5,7	9,13 (1) 9,16 (2) 10,15	1,6 2,23	
	VI. Acides aminés à noyau imidazol.	Histidine.....	7,75	9,41	(1) 6,07 (2) 1,46	
	VII. Acides thio-amines	Cystine Cystéine	4,1 5,0	(1) 7,48 (2) 9,02 (1) 8,14 (2) 10,35	1,7 1,95	

III. DESCRIPTION DES SPECTRES

A. PROTÉINES:

1) Sérumalbumine (fig. 7 et 7a).

Nous avons étudié une sérumalbumine pure de sang de Bœuf (préparation du D^r PIETTRE par la méthode de l'acétone), dissoute dans l'eau distillée et laissée sécher sur lame de sel gemme. La couche avait une épaisseur de 0,01 m/m. La sérumalbumine est extrêmement transparente jusqu'à 2,6 μ avec une petite bande vers 2,0 μ , une bande vers 2,25 μ et une petite bande vers 2,5 μ .

Vient ensuite une bande très intense de sommet 3,5 μ avec un contrefort vers 3,1 μ et vers 4,2 μ . Entre 4,5 et 5,5 μ elle est relativement transparente avec des bandes vers 4,5 et 5,0 μ . Vers 6,4 μ la sérumalbumine présente la bande la plus intense avec des contreforts à 5,7, 6,0 et 6,7 μ . La région entre 7 et 14 μ présente une grande série de bandes avec un maximum de transparence générale entre 10 et 11 μ . Les bandes d'absorption de la sérumalbumine sont donc les suivantes : 2,0 ; 2,25 ; 2,5 ; 3,1 ; 3,5 ; 4,2 ; 4,5 ; 4,9-5,1 ; 5,4 ; 5,7 ; 6,0 ; 6,4 ; 6,7 ; 7,0 ; 7,4 ; 7,6 ; 7,9 ; 8,3-8,4 ; 9,0 ; 9,2 ; 9,5 ; 9,9 ; 10,6 ; 11,2 ; 11,8 ; 12,6 ; 12,9 ; et 13,6 μ .

D'après le tableau de répartition des bandes d'absorption infrarouges de F. VLÈS (45) (1) la bande vers 2,0 μ correspond à un $>C=$ (2,0 μ) et à un $N\equiv$ (2,1 μ). La bande vers 2,25 μ peut correspondre à un $>C=O$ (2,2). La petite bande vers 2,5 μ correspond encore à un $N\equiv$ et un $C=O$ (2,5). La bande vers 3,0-3,1 μ est une bande de l'eau. La sérumalbumine présente ensuite une forte bande vers 3,5 μ caractérisée par un terme de la chaîne du $-\dot{C}-$ et $N\equiv$. Le contrefort à 4,1 est peut-être un $—N\equiv$ dû à une hydratation. La bande vers 4,5 coïncidant avec le point iso-électrique 4,5, coïncide avec la valeur 4,5 du $C=O$ d'un carboxyle et 4,6 μ du $N^=$ de l'amine. La bande 5,0 μ de même réunit l'élément à 4,9 ($N\equiv$ et $C=O$) et à 5,1 chaîne de $-\dot{C}-$. La bande 5,7 est encore un $>C=O$ de carboxyle ou de carbonyle.

(1) « A partir d'une étude détaillée des spectres infrarouges classiques (atlas de COBLENTZ), F. VLÈS a établi un tableau résumant les correspondances entre des bandes infrarouges et des éléments fondamentaux atomiques ou moléculaires qui sont le support de celles-ci ; cette analyse a été beaucoup aidée par la mise en évidence de relations sériales, linéaires (du type $\lambda - An$) reliant, entre certaines limites de longueur d'onde, les bandes connues de chacun de ces éléments : il y a ainsi une série linéaire pour les bandes relevant du $-\dot{C}-$, une autre pour le $>C=$; une pour $N\equiv$, et une autre, différente pour $—N\equiv$, etc. Le tableau ainsi construit et complété permet en première approximation d'analyser à vue des spectres infrarouges de substances comme le cyanure d'éthyle, l'aniline, le pyrrol, etc. » (F. VLÈS, C. R. Réun. Phys. biol. de Strasbourg ; 29 nov. 1935 ; *Ach. Phys. biol.*, XIII, n° 1, 109, 1936.)

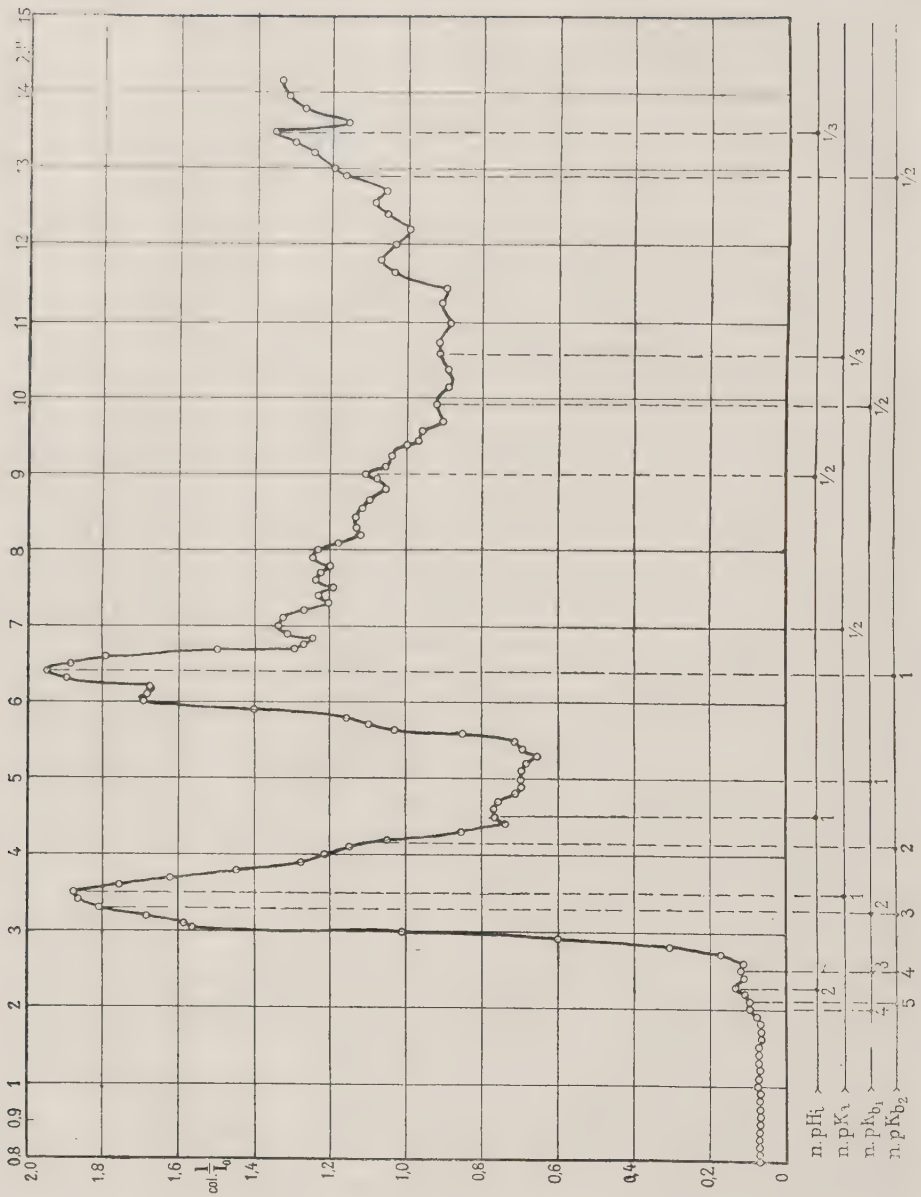


fig. 7. — Spectre d'absorption infrarouge de la Sérumalbumine : en bas : correspondance du pili. des pk et de leurs multiples et sous-multiples avec les bandes d'absorption (voir 3^e partie, p. 78).

La sérumalbumine présente ensuite deux fortes bandes (6,1 et 6,4 μ). La première comprend l'élément 6,0 de la chaîne de $-\dot{\text{C}}-$, et aussi une bande de 6,1 qui appartiendrait à un $\text{C}=\text{O}$, considérée usuellement comme caractéristique des cétones, ce qui ferait

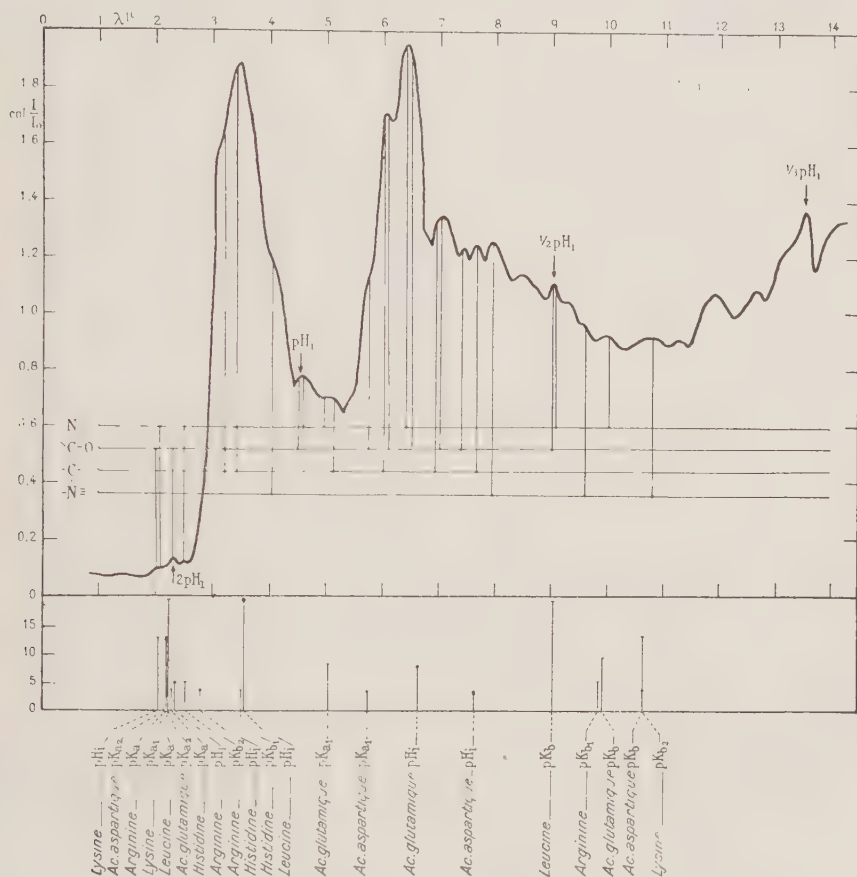


FIG. 7 a. — Spectre d'absorption infrarouge de la Sérumalbumine et éléments fondamentaux atomiques et moléculaires constitutifs.

songer à un cycle dicétopipérazique. La grande bande à 6,4 comprend N^- (6,4 μ) et un $\text{C}=\text{O}$ (6,5 μ). La bande 7,0 μ joint la chaîne de $-\dot{\text{C}}-$ (6,9 μ) et la bande de $\text{C}=(7,0 \mu)$. La petite bande 7,4 μ est peut-être la bande 7,3 de $>\text{C}=\text{O}$. La bande 7,6 μ est l'élément 7,7 μ de la chaîne de $-\dot{\text{C}}-$. La bande 8,0 μ est un $\text{C}=(7,9 \mu)$, la bande 9,0 μ bande correspondant à $\frac{1}{2}$ pH un $\text{C}=\text{O}$ et aussi la bande 9,1 μ de $\equiv$. Le contrefort 9,6 μ comprend un $\text{C}=\text{O}$. La bande vers 10,0 μ est un $\text{N}\equiv$. La figure 7 a rend compte

de la répartition de ces éléments atomiques ou moléculaires ($N\equiv$, $>C=O$ etc.) dans le spectre.

Le tableau de répartition des bandes infrarouges de F. VLÈS s'arrête vers $10\ \mu$, nous ne pouvons donc pour les autres bandes de la sérulalbumine donner des éléments constitutifs. La sérulalbumine présente encore une petite bande vers $11,2\ \mu$ puis une

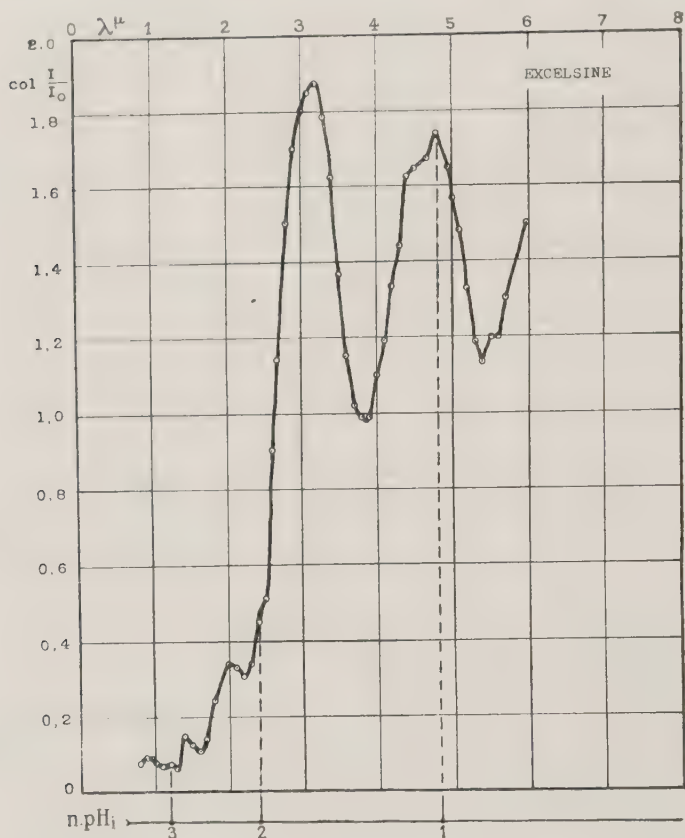


FIG. 8. — Spectre d'absorption infrarouge de l'Excelsine.

forte bande vers $11,8\ \mu$, une autre vers $12,6\ \mu$ puis un contrefort vers $13,0\ \mu$ et finalement une forte bande à $13,5\ \mu$, bande représentative, comme nous allons le montrer plus loin, de la série du point isoélectrique ($\frac{1}{3}\text{pH}_i$).

2) Excelsine (Fig. 8).

L'excelsine étudiée était une excelsine pure (globuline de Noix du Brésil, préparation du D^r BONNOT). Nous avons préparé une

solution contenant 0,50 gr. d'excelsine pour 75 cm³ de sérum physiologique distillé. La solution avait un pH égal à 6,3. L'excelsine a des bandes à 1,2 μ et 2,4 μ . D'autres bandes dans ce do-

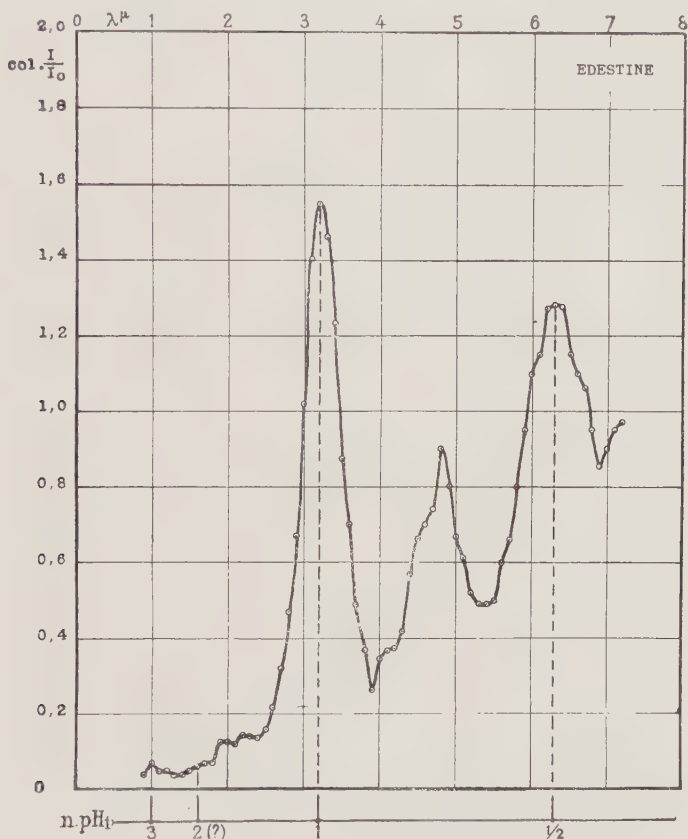


Fig. 9. — Spectre d'absorption infrarouge de l'Edestine.

maine jusqu'à 2 μ sont probablement cachées par les bandes de l'eau à 1,0, 1,45, 2,0 et 3,0 μ . Nous trouvons plus loin un léger contrefort à 4 μ , puis une forte bande complexe avec un contrefort à 4,5 et un sommet à 4,8 μ . A cette bande se superpose la bande de l'eau de 4,75. Nous avons encore une petite bande vers 5,5 μ .

3) Edestine (Fig. 9).

Nous avons préparé une solution contenant 0,25 gr. d'édestine (HOEFFMANN-LAROCHE) dans 3 cm³ NaOH N/100 + 1 cm. ClH N/10,

le pH de la solution était de 5,5. L'édectine est également très transparente jusqu'à $2,5 \mu$ avec une des bandes à : $1,0$, $1,1-1,2$, $1,6-1,7$, $2,0$ et $2,2 \mu$. Puis une bande très forte à $3,2 \mu$ avec un

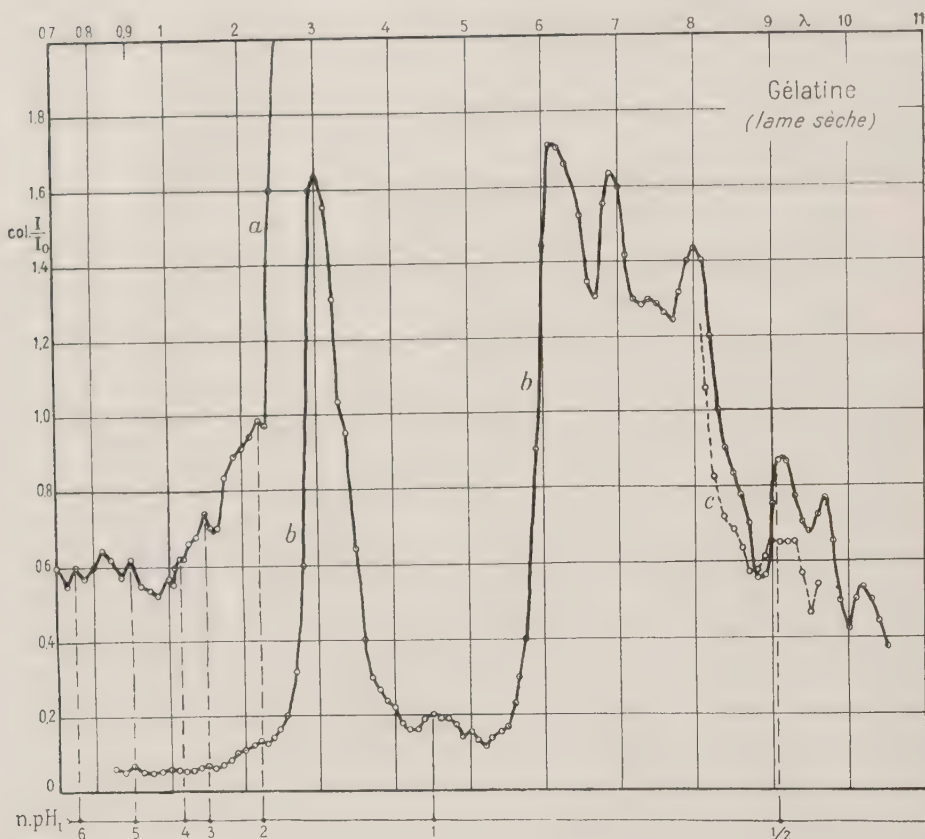


FIG. 10. — Spectre d'absorption infrarouge de la Gélatine.

contrefort à $3,8$. Des bandes à $4,1$, $4,5$ avec la superposition de la bande de l'eau à $4,75$, et un contrefort à $5,1 \mu$. La bande forte à $6,2-6,4$ semble être complexe. Elle a des contreforts à $5,6$ et $6,7 \mu$.

4) Gélatine isoélectrique (Fig. 10).

Le spectre de la gélatine a été obtenu en prenant comme point de départ de la gélatine isoélectrique. Nous avons préparé cette dernière nous-même en suivant la technique de LOEB sous la forme indiquée par VLÈS et VELLINGER (50) ; $pH_i = 4,7$. La courbe de la figure a été obtenue avec un film de $0,02$ m/m d'épaisseur

environ. La gélatine isoélectrique se montre très transparente jusqu'à $2\ \mu$ avec des bandes faibles à $0,750$, $0,82$, $0,900$, $0,95$ (μ), $1,0$, $1,15$, $1,30$, $1,50$, $1,9$ et $2,25\ \mu$. Pour faire mieux ressortir ces bandes, nous avons superposé 5 films de $0,1\ \text{m/m}$ d'épaisseur

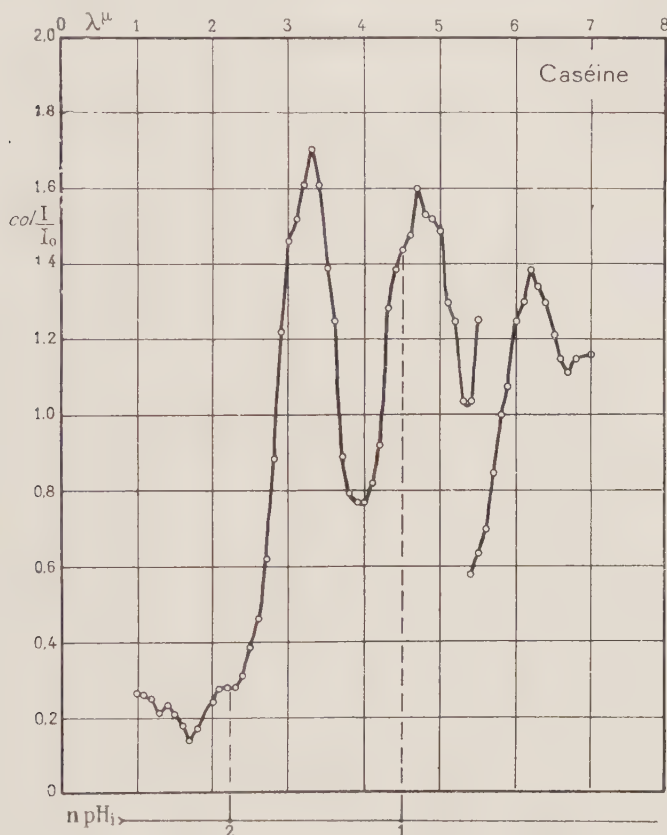


FIG. 11. — Spectre d'absorption infrarouge de la Caséine.

chacun en les comprimant fortement l'un contre l'autre. Ce paquet de films était légèrement trouble. Son spectre est représenté par la courbe *a*. La gélatine présente ensuite une très forte bande à $3,0\ \mu$ avec un contrefort entre $3,4$ et $3,5\ \mu$. Vers $3,7\ \mu$ il y a une bande faible et une bande plus forte à $4,0\ \mu$. A $4,5\ \mu$ nous avons une bande, c'est d'ailleurs comme nous allons voir plus tard la bande correspondant au point isoélectrique de la gélatine. Vers $4,6$ - $4,7$ il y a également une petite bande, puis une autre à $5,0$ et $5,4\ \mu$. Dans toute cette région la gélatine est très transparente. A $6,1\ \mu$ nous avons une bande très forte, elle est d'ailleurs plus in-

tense que la bande à 3,0 μ . Une autre bande forte à 6,9 μ et une petite bande à 7,4. Une bande intense à environ 8 μ . A partir de ce moment la gélatine devient plus transparente avec une petite bande à 8,6. Puis une bande forte à 9,1 μ , 9,7 et enfin une bande à 10,2 μ .

La forte bande à 3,0 μ n'est pas une bande de l'eau, comme l'a montré COBLENTZ (8) ; en déshydratant la gélatine cette bande subsiste.

Nous avons pris également le spectre d'une gélatine ordinaire du commerce (COIGNET). Le spectre s'est montré identique au spectre de la gélatine isoélectrique en tous les points sauf pour la bande à 9,1 μ . La gélatine ordinaire (courbe c) possède à cet endroit une bande moins forte et de structure plus compliquée. Il semble qu'il y ait deux bandes à 9,1 et 9,3 μ . Notons ici déjà que la bande 9,1 de la gélatine isoélectrique correspond au $\frac{1}{2}$ pili de cette substance et qu'une différence entre la gélatine ordinaire et la gélatine isoélectrique se fait sentir justement sur une bande caractérisant le point isoélectrique. Pour la bande à 4,5 μ nous n'avons pas pu déceler cette différence, vu la faible amplitude de la bande.

5) Caséine (Fig. 11).

Avec de la caséine selon HAMMERSTEN (MERCK) nous avons préparé une solution contenant 0,3 gr. de caséine dans 2 cm³ NaOH N/100. Les bandes d'absorption sont à 1,0, 1,4; 2,1-2,3 μ . Un contrefort à 2,45. Puis une bande très forte à 6,3 μ avec un contrefort à 3 μ , 6. Vers 4,8 la caséine présente une bande complexe extrêmement intense, avec des contreforts à 4,5 et à 4,93 et 5,2 μ . A partir de 5,5 μ , nous étions obligés, vu la grande absorption de continuer le spectre avec une cuvette moins épaisse. Nous avons une bande très forte à 6,2 et probablement une bande vers 7 μ .

6) Oxyhémoglobine (Fig. 12).

Le spectre d'une oxyhémoglobine cristallisée de Cheval, O₂Hb cristallisée par M. VLÈS avec la méthode alcool-réfrigération (1) solution de première cristallisation contenant 10,6 gr. O₂Hb par

(1) « Hématies de Cheval décantées du sang défibriné, lavées deux fois par centrifugation dans une solution de NaCl à 8%, leucocytes et culot extrême éliminés; laquées dans leur volume d'eau distillée sans addition d'ether; la solution est centrifugée, puis mise à cristalliser en glacière sous un volume d'alcool à 95° équivalent au volume initial des hématies; le résidu cristallin est lavé à l'eau glacée et redissous. » (F. VLÈS. — Note sur les constantes optiques des Hémoglobines, *Arch. Phys. Biol.*, 1-1-1921.)

litre, dosée au spectrophotomètre sur $\lambda = 542$) est représenté par la fig. 12 (courbe tracée en plein). Le spectre des cristaux est marqué par la courbe en pointillée. Les cristaux n'entraînaient pas de méthémoglobine.

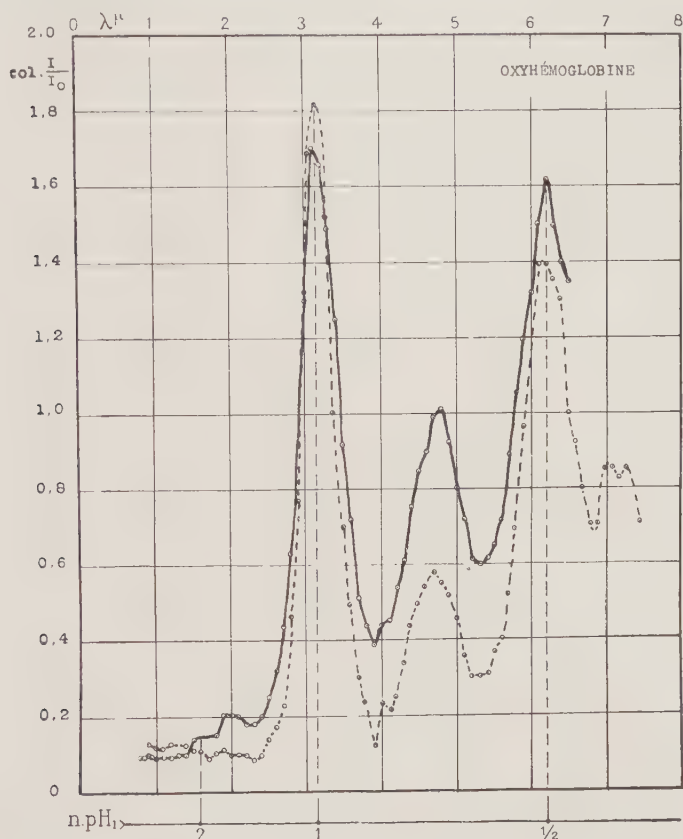


FIG. 12. — Spectre d'absorption infrarouge de l'Oxyhémoglobine

L'oxyhémoglobine est très transparente jusqu'à $2,5 \mu$ (1). A $3,1 \mu$ nous avons une bande forte correspondant au point isoélectrique de l'oxyhémoglobine, à cette bande se superpose la bande de l'eau à $3,06 \mu$. Vers $3,7$ nous avons un léger contrefort puis une bande à $4,0 \mu$ et $4,5 \mu$. La bande de $4,75$ est la bande de l'eau. Puis à $6,2 \mu$, nous avons une forte bande qui n'est pas uniquement due à l'eau, avec un contrefort à $6,5 \mu$. Puis deux bandes à $7,0$ et $7,25 \mu$.

(1) HARTRIDGE H. et A. V. HILL (15 bis) ont signalé une petite bande vers $9,9 \mu$; bande que nous avons retrouvée.

B. POLYPEPTIDES:

Nous avons étudié une série de peptones de différentes provenances. Ces peptones contiennent en réalité une quantité plus ou moins grande d'albumoses. Nous avons étudié ainsi, une peptone

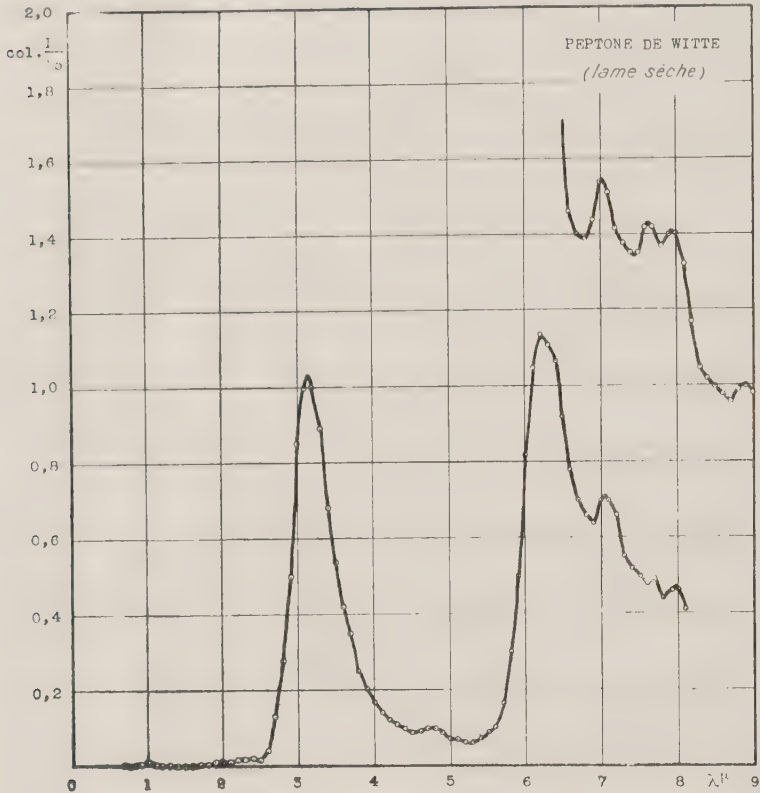


Fig. 13. - Spectre d'absorption infrarouge de la Peptone de Witte

de Witte (CIBA) (fig. 13), une peptone de soie (HOFFMANN-LAROCHE) (fig. 14), un échantillon MERCK (fig. 15) et une albumose de caséine (SIEGFRIED) (fig. 16). Tous ces polypeptides sont les échantillons mêmes étudiés autrefois par F. VLÈS et A. DE COULON (37) et dont la composition avait été donnée à ce moment.

1. La *peptone de Witte* (CIBA) (riche en albumoses) était en ampoules contenant des solutions à 10 %. Nous avons desséché la solution étalée sur une lame de mica mince dans le vide sulfu-

rique, et avons obtenu ainsi une couche homogène transparente d'environ 0,01 mm. d'épaisseur. Le spectre est donné par la fig. 13.

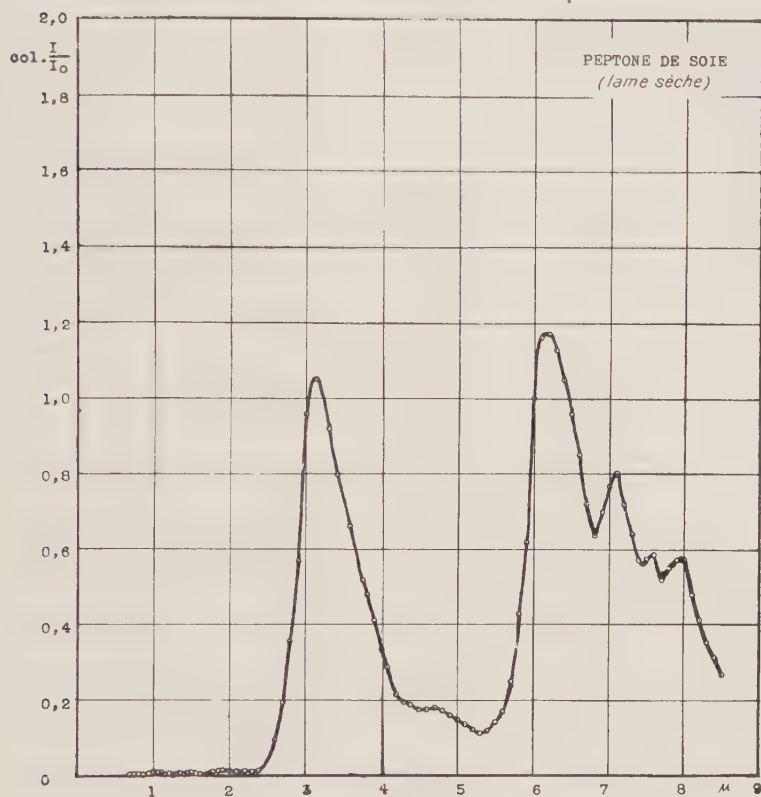


FIG. 14. Spectre d'absorption infrarouge de la Peptone de soie.

Le spectre *b* a été obtenu par une lame mince de peptone sans support de mica, ainsi nous avons pu obtenir le spectre d'absorption jusqu'à 9 μ .

2) La *peptone de soie* (HOFFMANN-LAROCHE) se présentait comme une masse gélatineuse assez dure. Nous l'avons dissoute dans l'eau légèrement alcalinisée et fait dessécher sur lame de mica. La couche obtenue avait une épaisseur de 0,01 mm. environ ; elle était légèrement rugueuse (fig. 14).

3) La **peptone de MERK** (très riche en albumoses) se présentait sous forme de poudre jaunâtre. Nous l'avons dissoute dans l'eau légèrement alcalinisée et desséchée sur lame de mica. L'épaisseur de la couche obtenue était environ 0,015 mm. (fig. 15).

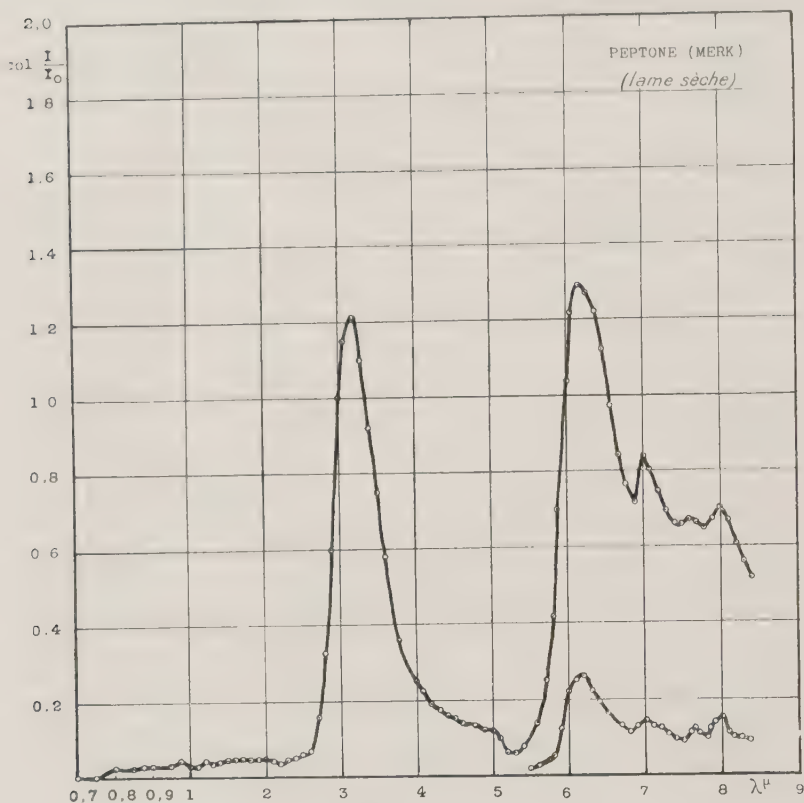


FIG. 15. — Spectre d'absorption infrarouge de la Peptone de Merck.

4) L'**albumose de caséine** (SIEGFRIED) a été dissoute également dans l'eau légèrement alcalinisée et desséchée ensuite sur lame de mica. L'épaisseur était environ 0,01 mm. (fig. 16).

Tous ces polypeptides ont des spectres à peu près identiques. Du visible jusqu'à 2,5 μ nous avons une région extrêmement transparente. Ensuite une bande très forte à 3,15 environ. C'est une bande des carbonés $-\dot{C}-$.

La région de 4 à 5,5 μ est de nouveau une région très transparente avec de très faibles bandes à 4,5 μ environ et à 5 μ . Vient ensuite une forte bande à 6,2. Pour tous les polypeptides étudiés cette bande est un peu plus forte que la bande à 3,15. A partir de

cette bande la transparence augmente et trois bandes caractéristiques apparaissent à 7 ; 7,6 et 8 μ .

Pour la peptone de Witte la transparence augmente encore jusqu'à 9 μ avec une bande à 8,9 μ .

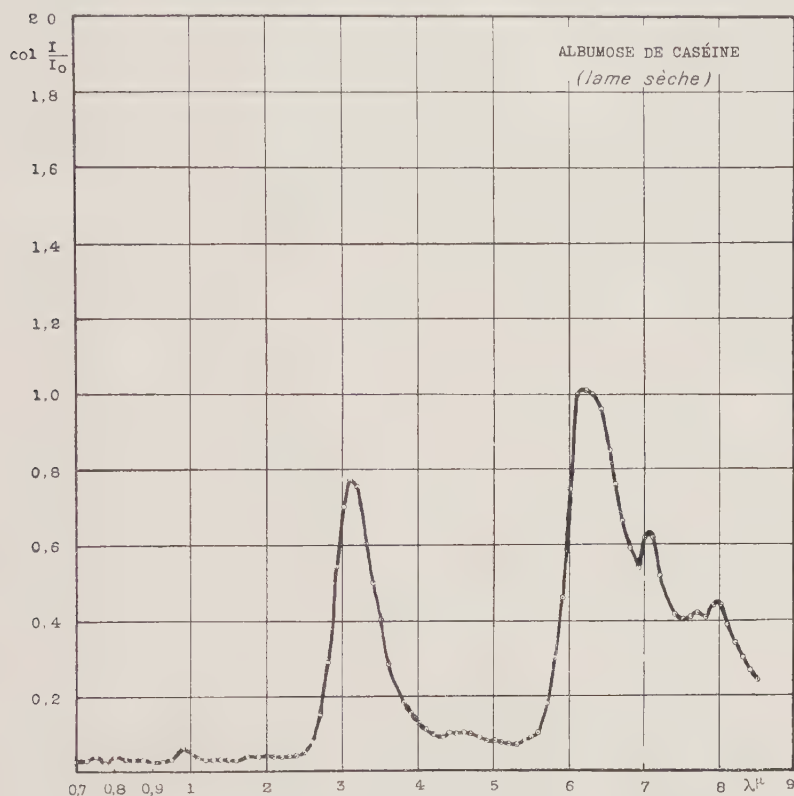


FIG. 16. — Spectre d'absorption d'une Albumose de Caséine.

5 Albumose de Bence-Jones.

Nous avons étudié une albumose de BENCE-JONES qui nous a été communiquée par le D^r CHECHAND (1). Elle provenait des urines d'une malade atteinte de rhumatisme chronique.

(1) « L'urine, recueillie dans la glace, était filtrée, puis amenée à zéro et précipitée par trois fois son volume d'acétone à -7° - 8° . Le précipité recueilli par centrifugation était remis en solution dans le minimum d'eau distillée glacée ; les phosphates alcalino-terreux précipités par l'acétone en même temps que la protéine, ne repassaient en solution que pour une faible partie ; séparés par centrifugation où retraitait la solution claire obtenue par de l'acétone glacé, le précipité de protéine lavé trois fois à l'acétone glacé et deux fois à l'éther glacé étant finalement desséché dans le vide. »

Le produit ainsi obtenu en solution dans l'eau distillée, a donné après dessiccation sur lame de mica le spectre de la fig. 17. L'épaisseur de la couche était inférieure à 0,01 mm. Le spectre de cette albumose diffère des autres polypeptides déjà étudiés. La substance est très transparente jusque vers $2,5 \mu$ puis elle présente une forte bande vers $2,95 \mu$ avec un contrefort vers $3,4 \mu$. Jusqu'à $5,5 \mu$ elle est de nouveau très transparente avec des contreforts à $3,7$; $4,1$; une série de petites bandes vers 5μ , $5,2 \mu$ et une bande plus forte vers $4,5 \mu$ (bande correspondant probablement au point isoélectrique). A $6,0 \mu$ nous avons une forte bande avec un contrefort sur $6,4 \mu$; puis une série de petites bandes à $6,8$; $7,1$ et $7,5 \mu$. Vers $8,1 \mu$ une bande importante.

C. SUBSTANCES BIOLOGIQUES NATURELLES:

1) Blanc d'œuf (Fig. 18).

Nous avons pris le spectre du blanc d'œuf frais sous environ 0,02 mm. d'épaisseur. Cette substance ne présentait aucune bande jusqu'à $1,7$. La première bande se place à $2,2 \mu$. Vers $2,6 \mu$ environ un contrefort faible sur la forte bande complexe de $3,1-3,30$. A $3,9$ environ un contrefort.

Un contrefort également à $4,4 \mu$ sur la forte bande à $5,8$ environ. Enfin un faible contrefort sur $5,5 \mu$.

2) Sérums de sangs humains.

Nous avons étudié le spectre d'une série de sérums humains dans le but de connaître la structure spectrale infrarouge, mais surtout en vue d'une vérification de la correspondance entre les pK du sérum et les bandes d'absorption données par la formule de M. VLÈS (voir p. 78). Le sérum est obtenu suivant une technique de F. VLÈS employée pour la cataphorèse à l'Institut de Physique biologique (46). Le sang est pris au pli du coude, puis laissé coaguler à l'étuve 1 h. $1/2$, ensuite mis (5 heures après la prise) à la glacière où s'effectue la rétraction du caillot. A ce moment on sépare le sérum du caillot. Quelques gouttes de ce sérum sont alors mises sur une lame de mica et laissées sécher à l'étuve à 37° . L'épaisseur de la couche sèche était en moyenne 0,01 millimètre. Le sérum est extrêmement transparent jusqu'à $2,5 \mu$ avec des bandes très faibles; entre 3 et $3,2 \mu$ il y a la forte bande du carbone. Entre 4 et $4,5$ la transparence est de nouveau très grande avec de nombreuses bandes. Vers $6-6,1 \mu$ vient une deuxième

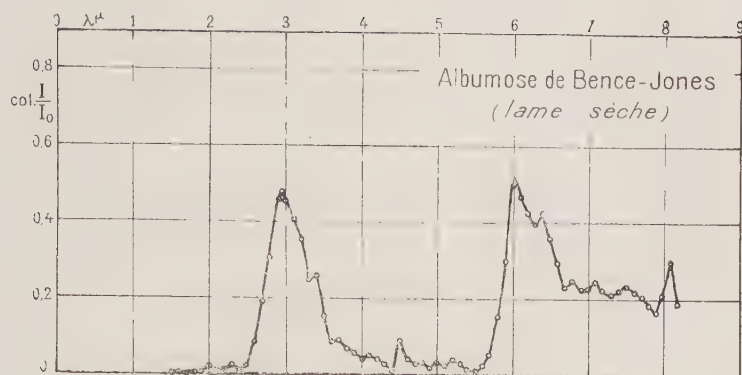


FIG. 17. — Spectre d'absorption infrarouge de l'albumose de BENCE-JONES.

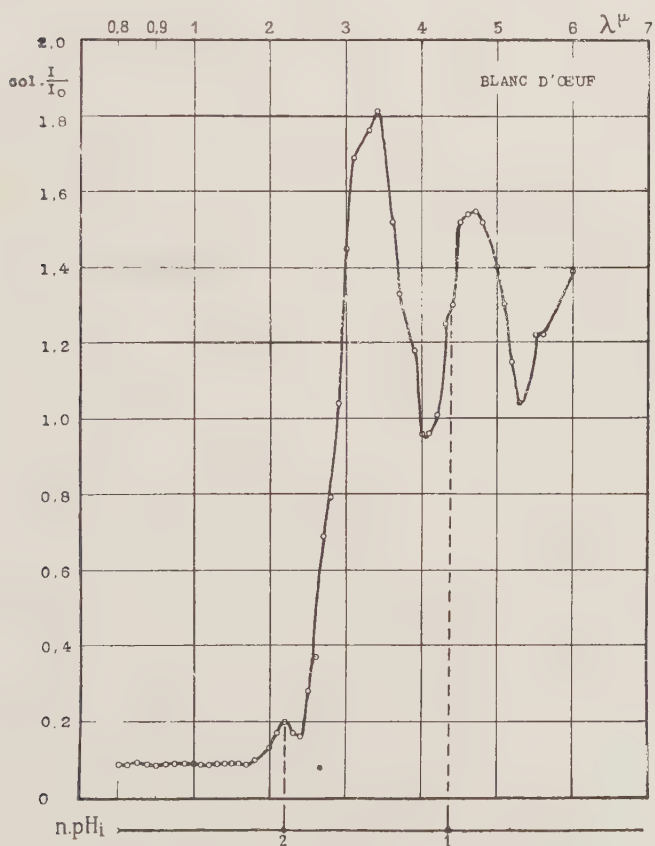


FIG. 18. — Spectre d'absorption infrarouge du blanc d'œuf.

bande très forte et une troisième 6,4-6,5 μ . A partir de 6,6 μ environ jusqu'à 8 μ l'absorption générale est assez forte avec une bande complexe de 6,7 à 7,1 μ . Vient ensuite une série de bandes

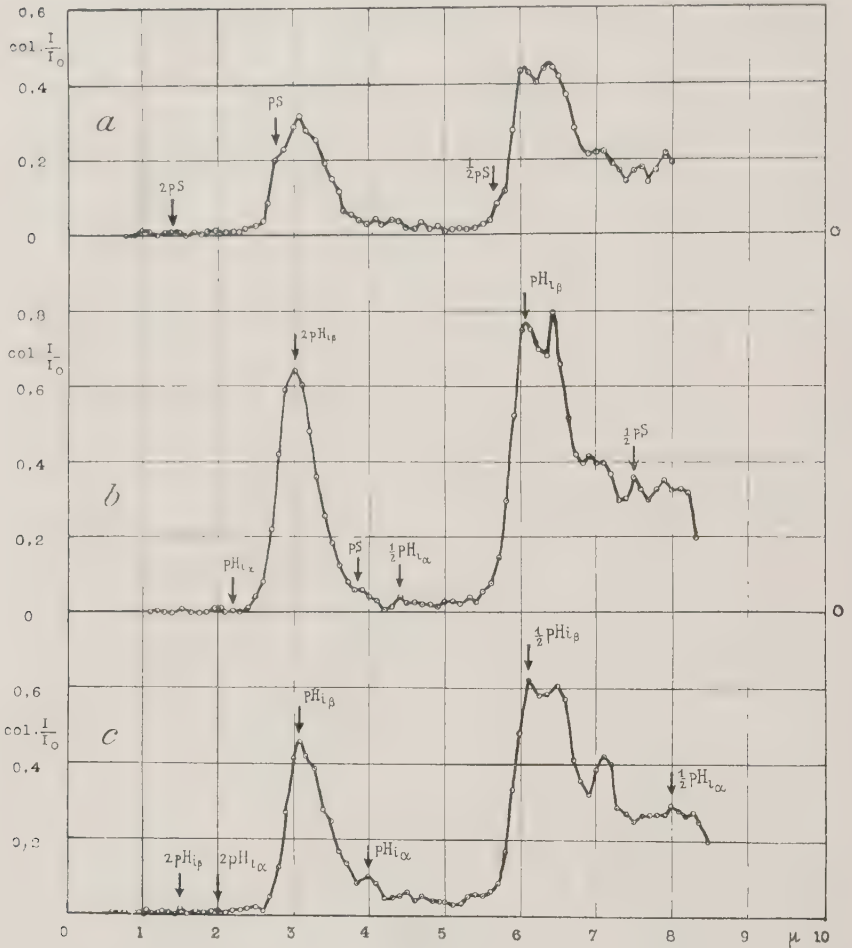


Fig. 19. — Spectres d'absorption infrarouge de sérums de sangs humains.

entre 7,3 et 8 μ . Pour tous les sérums les bandes entre 6,0 et 6,5 sont plus fortes que les bandes aux environs de 3 μ .

Les figures 19, 20 et 21 montrent l'allure de ces spectres. Le spectre de la figure 19 courbe *a* est le spectre d'un sérum d'une jeune femme considérée comme normale. Tous les autres sérums proviennent de cas pathologiques : fig. 19 courbes *b* : récidive d'un cancer du sein opéré ; courbe *c* : maladie de Hodgkin. La

courbe *a* de la fig. 20 est le spectre du sérum d'un malade atteint de rhumatisme ; la courbe *b* : sarcome récidivant du cuir chevelu

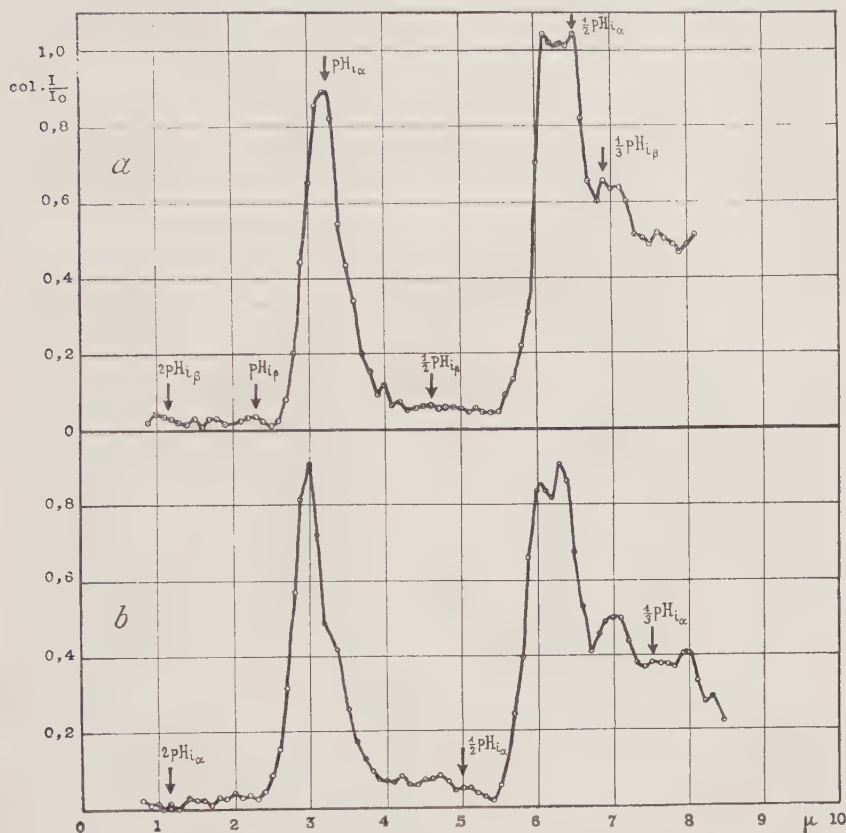


Fig. 20. — Spectres d'absorption infrarouge de sérums de sangs humains.

en traitement par les acides aminés. La fig. 21, courbe *b* : spectre du sérum d'une malade atteinte de tuberculose. Les courbes *a* et *c* proviennent du sérum d'un malade atteint d'un cancer du rectum, les deux prélèvements du sang étaient faits à quelques mois d'intervalle (courbe *a* : 29 mars 1935, courbe *c* : 21 mai 1935). Il est intéressant de remarquer le changement du spectre avec cet intervalle. Le spectre *a* présente une bande vers $4,8 \mu$ (bande correspondant à $\frac{1}{2} \text{pH}_{I\alpha}$, voir p. 78) qui n'existe plus dans le spectre de la courbe *c*. La bande vers $6,4 \mu$ (courbe *a*) (bande correspondant à $\frac{1}{2} \text{pH}_{I\alpha}$) a notablement augmenté dans l'intervalle du temps ; et vers $7,2 \mu$ nous avons également une bande que nous ne rencontrerons plus dans la courbe *c*. Par contre les bandes vers $7,5, 7,6 \mu$ se sont différenciées dans la courbe *c*,

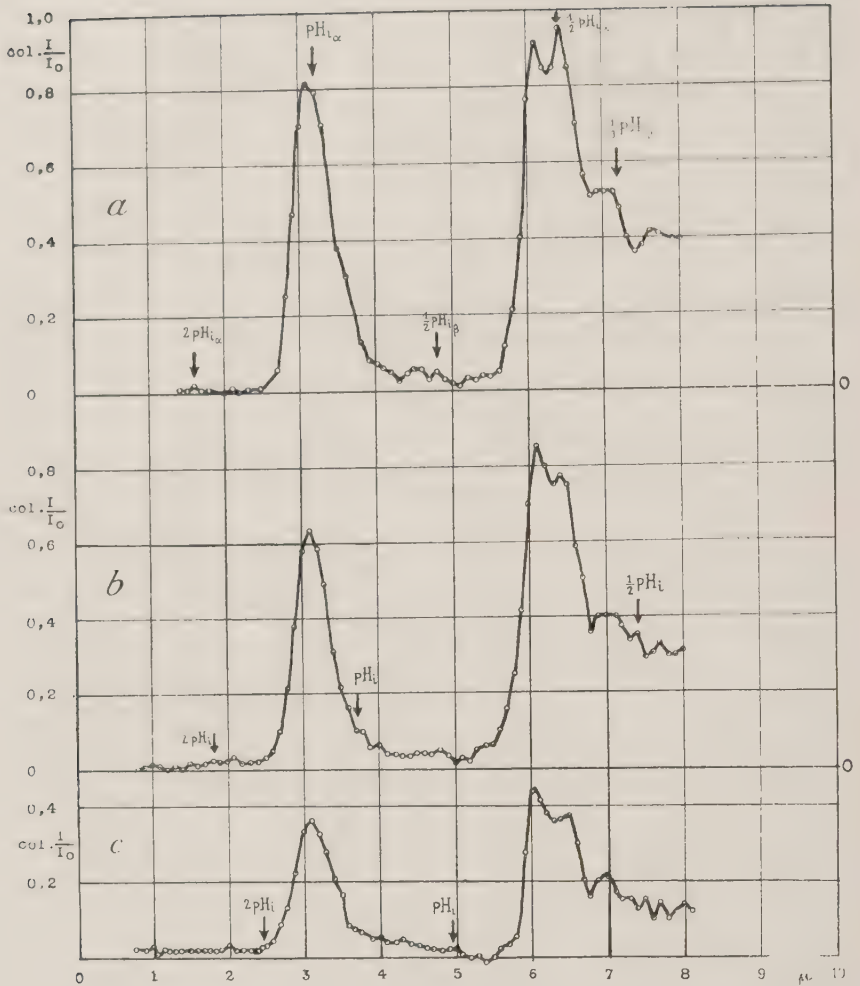


FIG. 21. — Spectres d'absorption infrarouge de sérums de sangs humains.

D. ACIDES AMINES:

1) **Glycocolle** $\text{CH}_2\text{-NH}_2\text{-COOH}$ (fig. 22 et 23).

La substance employée (Rhône-Poulenc) a été recristallisée à chaud. Nous avons étudié des solutions à des concentrations différentes et à des pH différents. La fig. 22 représente le spectre d'une solution à 25 % dans l'eau légèrement acidulée par l'acide chlorhydrique; le pH de la solution a été 4,5. La fig. 23 provient

d'une solution moins concentrée à 25 % alcalinisée par NaOH, le pH de la solution était 7,2. La même solution, sous des épaisseurs moins grandes est représentée par les figures *b* et *c*.

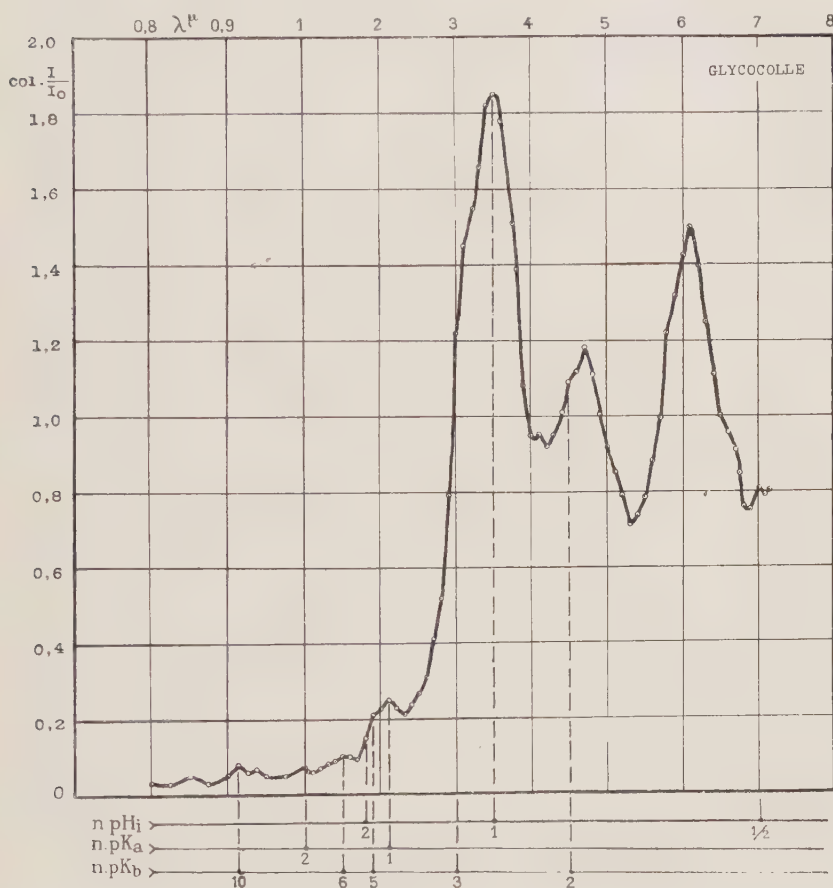


Fig. 23. — Spectre d'absorption infrarouge du Glycocolle.

Jusqu'à 3 μ le glycolle est extrêmement transparent, avec une série de petites bandes : 0,850, 0,912, 0,917, 1,05, 1,5-1,6, 1,9; 2,1, 2,5 et 3,0 μ . A 3,1 μ nous avons la forte bande de l'eau. A 3,50 le glycolle a une bande extrêmement intense. Nous allons voir plus tard que c'est la bande correspondant au point isoélectrique. Quand la concentration de la solution diminue nous voyons se confondre la bande 3,50 avec la bande 3,1 de l'eau pour former un sommet unique vers 3,25 environ (fig. 23, courbe *a*). La courbe *b*, obtenue par la même solution à 25 % mais sous

épaisseur plus faible fait de nouveau ressortir la bande de l'eau à 3.1 et la bande du glycolle est indiquée par un léger contrefort à 3.5 environ.

Cet exemple nous montre la difficulté de trouver la place exacte

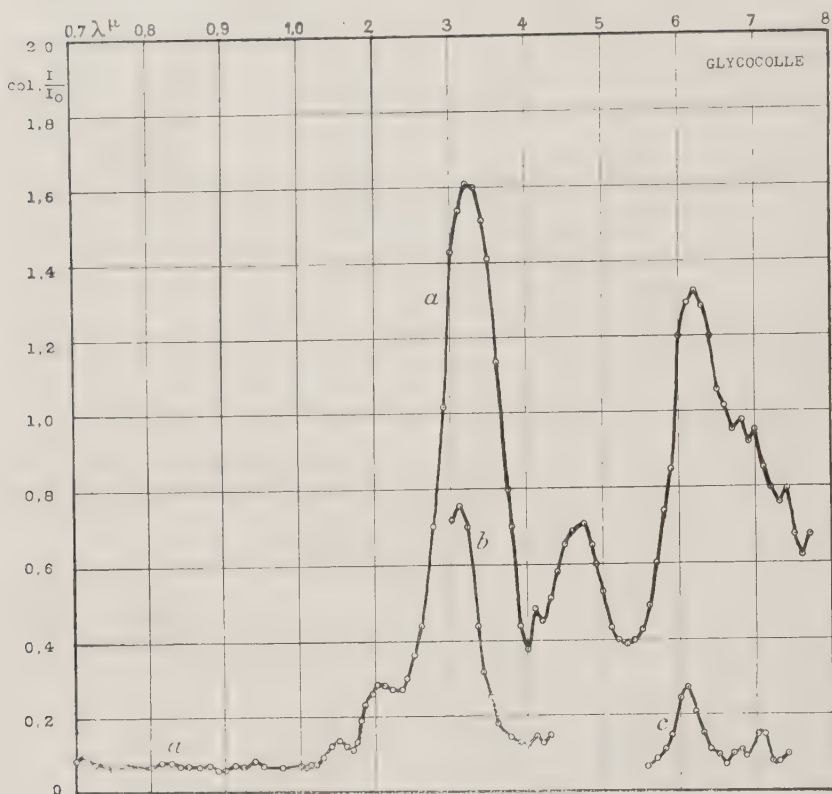


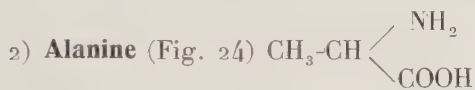
Fig. 23. Spectre d'absorption infrarouge du Glycolle.

des bandes d'un corps en solution dans l'eau, étant donné que les bandes nombreuses et souvent extrêmement intenses de l'eau peuvent cacher ou déplacer les bandes du corps. Les deux courbes étant obtenues par des solutions à des pH différents 4,5 et 7,2 ne montrent pas de différence.

La comparaison du spectre du glycolle avec celui de l'acide acétique en solution aqueuse montre que l'acide acétique ne possède pas de contrefort à $3,0 \mu$, ni la bande à $4,1 \mu$ ni celle à $4,5 \mu$ du glycolle. L'analyse de la constitution moléculaire du glycolle d'après le tableau de répartition de F. VLÈS (45) conduit aux résultats suivants :

La bande à $2,1 \mu$ paraît dépendre de la fonction aminée ($2,1 \mu$), de l'eau ($2,0 \mu$) et d'un $>C=O$ ($2,0 \mu$). La forte bande $3,5 \mu$ correspond à la composante $3,4 \mu$ de la chaîne de $-\dot{C}-$ et aussi à la fonction aminée ($3,4 \mu$). La petite bande $4,1 \mu$ pourrait être la composante $4,2$ du $C=O$ de la fonction acide. Le contrefort à $4,5 \mu$ peut être également un carboxyle ($4,5 \mu$) mais plus probablement une fonction aminée ($4,6 \mu$) car F. VLÈS a montré (42) que la série du $C=O$ et celle du $N\equiv$ se superposent approximativement; il y a donc souvent des réponses ambiguës dans les limites de précision des mesures. Le sommet à $4,75 \mu$ est évidemment dû à l'eau.

Le contrefort à $5,8 \mu$ est probablement formé par le carboxyle ($5,7$; $5,9 \mu$). La grande bande à $6,1 \mu$, outre de l'eau ($6,2 \mu$) renferme le groupement $C=O$ du carboxyle et surtout la chaîne de carbone $-\dot{C}-$. Le contrefort $6,7 \mu$ pouvant éventuellement être résolu en deux éléments, l'un à $6,5$, l'autre à $6,8$ dépend pour le premier du carboxyle et pour le second de la chaîne des carbones $-\dot{C}-$. La bande à $7,0-7,1$ est encore reliée au carboxyle et aussi à la fonction aminée ($7,2 \mu$). La bande $7,4 \mu$ est peut-être représentative du groupement $C=O$ ($7,3 \mu$).



On a étudié une alanine racémique (HOFFMANN-LAROCHE) en solution à 15 % dans l'eau distillée. Le pH de cette solution a été 3,2. Le spectre est donné par la fig. 24, figure du haut. Ici encore nous trouvons des bandes masquées par les bandes de l'eau, c'est pourquoi nous avons essayé d'obtenir l'alanine à l'état de lame sèche. Sur une lame mince de mica nous avons laissé évaporer quelques gouttes de solution. On obtient ainsi une lame cristalline dont l'épaisseur dépend de la concentration de la solution et de la quantité de solution mise à évaporer, donc facilement réglable pour obtenir un bon spectre. L'épaisseur dans le cas de la fig. 24 est d'environ 0,01 millimètre. Les lames se présentent sous forme cristalline, c'est-à-dire non homogène au point de vue optique. Elles agissent dans le spectre comme un milieu trouble, par suite d'un effet de diffusion. Par conséquent ces spectres ne sont point quantitatifs. Sur la fig. 24 cet effet de diffusion se fait sentir jusqu'à $2,5 \mu$ environ. On voit en comparant le spectre de la solution avec celui de la lame que l'opacité jusqu'à $2,5 \mu$ environ est uniquement due au « trouble » de la lame cristalline.

Comme pour le glyocolle nous avons des bandes faibles à $0,850$, $0,912$, $0,917$. Un complexe entre $1,0-1,15$, $1,4-1,6$, une

petite bande à 1,75 des bandes à 2,0 ; 2,2 ; 2,4-2,5 ; 3,1 ; 3,45-3,6 ; 4,0 ; 4,2 ; 4,7 ; 6,10 ; 6,9-7,4 et 8,1 μ .

Pour faire ressortir dans le spectre de la solution la bande 3,45-3,6 nous avons tracé en pointillé le spectre de l'eau seule entre

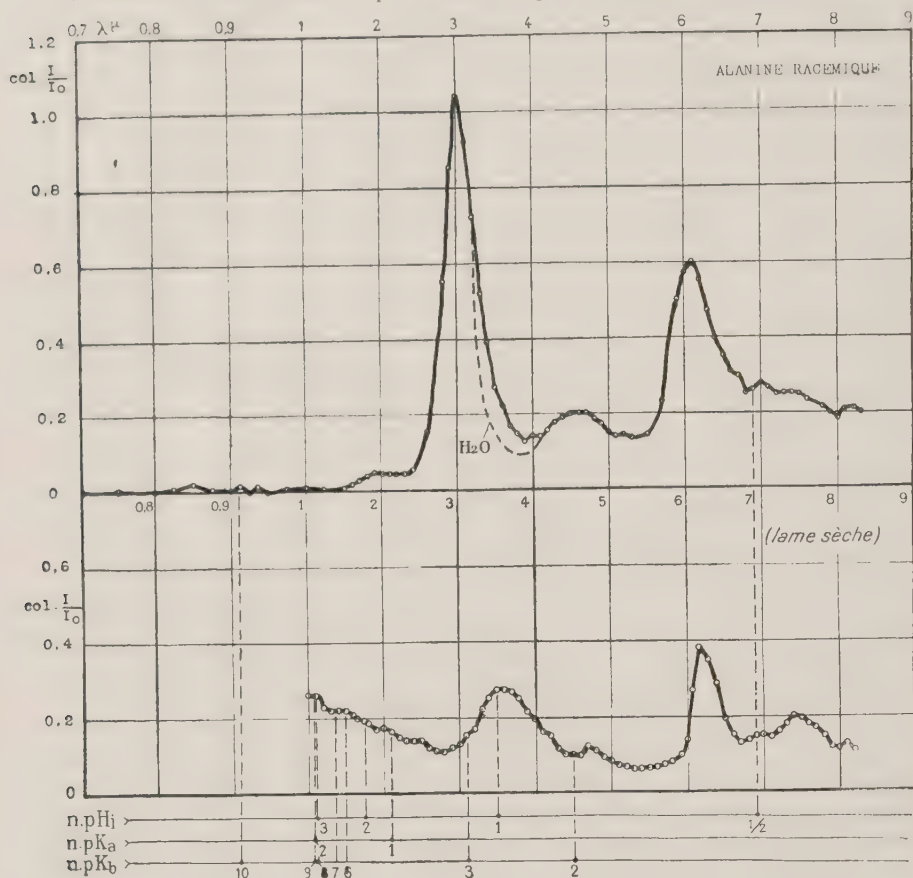
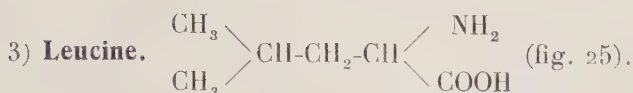


FIG. 24. — Spectre d'absorption infrarouge de l'Alanine.

(En haut: solution ; en bas : lame sèche).

3,1-4,2 μ . La constitution moléculaire de l'alanine peut être la suivante : le contrefort à 2,0 μ paraît être une fonction aminée (2,1 μ) et un carboxyle (2,0 μ). La bande large 3,5-3,7 μ correspond à la composante 3,4 de la chaîne de $-\dot{C}-$ et aussi à la fonction aminée 3,4 et 3,75 μ . La petite bande 4,2 μ pourrait être un $C=O$ de la fonction acide (4,2 μ). La bande vers 4,6 μ est liée à la fonction aminée (4,6 μ). La forte bande à 6,2 μ renferme le groupement $C=O$ du carboxyle. Le contrefort vers 6,9-7,6 μ est lié au carboxyle (7,0 μ) de même que la bande 7,4 μ et celle vers 8,1 μ .



La leucine employée était une *l-leucine* (HOFFMANN-LAROCHE). Nous avons laissé cristalliser une solution concentrée sur lame de

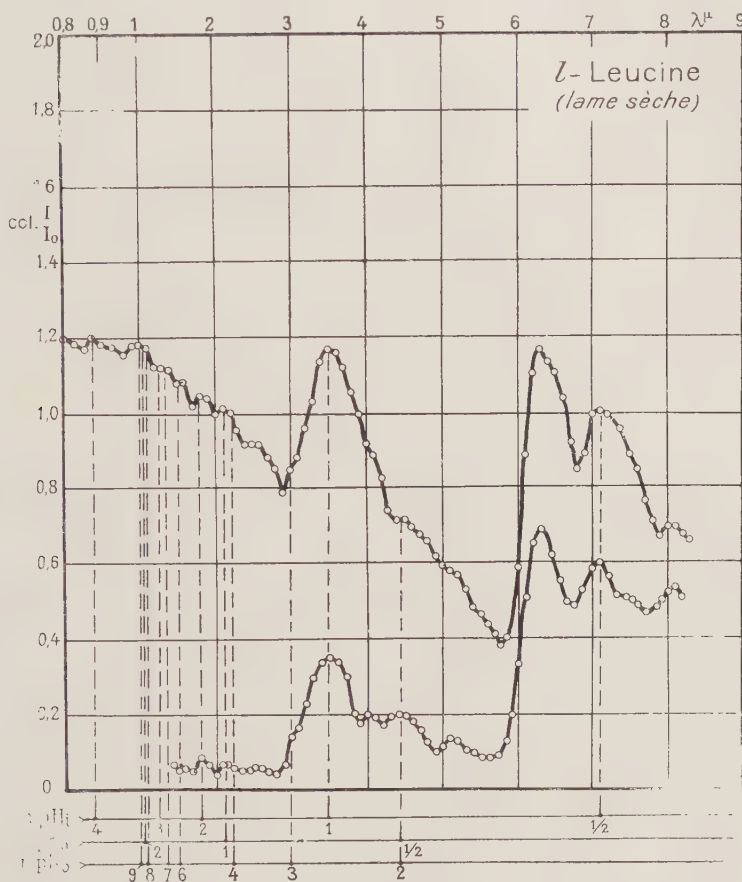


Fig. 25 - Spectre d'absorption infrarouge de la Leucine.

mica, desséchée ensuite à l'étuve à 38°. La bande obtenue était malgré sa faible épaisseur, environ 0,01 millimètre, extrêmement trouble. L'influence de ce trouble se fait sentir dans le spectre fig. 25 très loin jusqu'à 6 μ environ. Une étude comparative avec une lame moins épaisse (fig. b) montre que jusqu'à 3 μ les bandes de la *l-leucine* sont très faibles ; les cologarithmes élevés jusqu'à 3 μ sont donc uniquement dus à la diffusion. Cependant

nous avons toute une série de petites bandes dans cette région : $0,880$; $0,95$ – $1,15$; $1,2$ – $1,4$; $1,5$ – $1,6$; $1,75$; $2,1$ – $2,3$; $2,4$ – $2,6$ et $3,0$ μ . A $3,55$ μ nous avons une bande extrêmement intense. Nous allons voir plus tard qu'elle correspond au point isoélectrique de la leu-

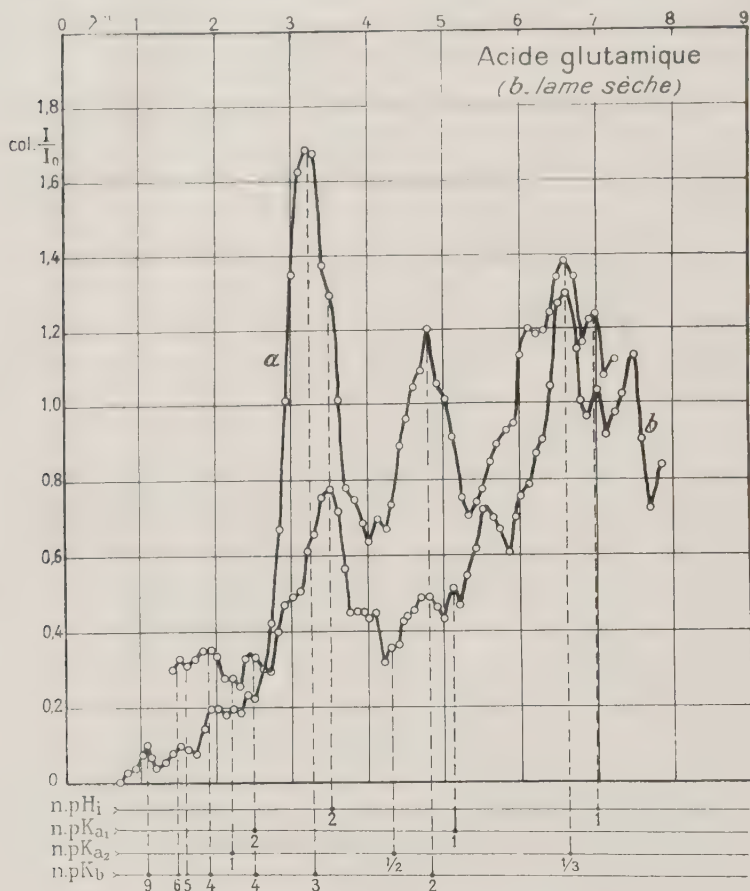
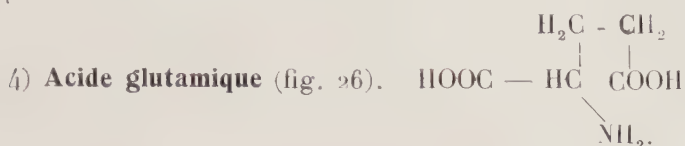


FIG. 26. — Spectre d'absorption infrarouge de l'Acide glutamique.
(a, solution ; b, lame sèche).

cine. A $4,15$ μ , nous avons un contrefort, puis des bandes à $4,4$ – $4,5$, $5,1$, $5,5$, $6,2$, $7,1$ et à $8,0$ μ .

La petite bande à $2,1$ μ paraît être une fonction aminée ($2,1$ μ). La grande bande à $3,5$ μ correspond à la composante $3,4$ μ de la chaîne du $-\dot{C}-$ et aussi à la fonction aminée ($3,4$ μ). Le contrefort vers $4,15$ μ pourrait être une composante de $C=O$ ($4,2$ μ). Vers $4,5$ μ nous avons encore un carboxyle et une fonction aminée. La

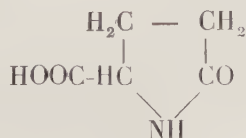
bande vers $5,1 \mu$ peut correspondre à la chaîne de C ($5,0 \mu$). La grande bande vers $6,3 \mu$ renferme le $C=O$ du carboxyle et probablement la chaîne de C. La bande vers $7,1 \mu$ est encore reliée au carboxyle et aussi à la fonction aminée ($7,2 \mu$). La bande vers $7,3 \mu$ paraît être un carboxyle ($7,3 \mu$) de même que la bande vers $8,1 \mu$.



La figure 26, courbe *b* est le spectre d'une lame sèche (épaisseur $0,01 \text{ m/m}$) obtenue en cristallisant lentement une solution d'acide glutamique entre deux lames de mica, dans le vide sulfurique à chaud (environ 70°). La courbe *a* est le spectre d'une solution d'acide glutamique dans l'eau distillée légèrement acidulée par l'acide chlorhydrique. L'acide glutamique possède des bandes vers $1,5 \mu$ une bande large entre $1,7$ et $2,0 \mu$, correspondant à un terme de la chaîne de $-\dot{\text{C}}-$ ($1,72$); à un $>\text{C}=(1,8 \text{ et } 2,0 \mu)$. Le petit contrefort à $2,1$ peut correspondre à un $\text{N}\equiv$ de même que la bande vers $2,5 \mu$. Le contrefort vers $3,0 \mu$ est peut-être un reste d'eau. Le contrefort à $3,3 \mu$ correspond à la chaîne de $-\dot{\text{C}}-$. La forte bande à $3,5 \mu$ est un $\text{N}\equiv$ ($3,4 \mu$). La bande vers $4,1 \mu$ peut correspondre à un $-\dot{\text{C}}-$ ($4,2 \mu$). À $4,4 \mu$ nous avons un $>\text{C}=(4,4 \mu)$ et le contrefort à $3,6$ correspond à un $\text{N}\equiv$. La bande à $4,75$ est due probablement encore à un reste d'eau. La bande à $5,1 \mu$ peut correspondre à un $-\dot{\text{C}}-$ ($5,0 \mu$). La forte bande à $5,6 \mu$ peut correspondre à un $>\text{C}=\text{O}$ ($5,7 \mu$). Le contrefort à $6,1 \mu$ outre de l'eau renferme le groupement $\text{C}=\text{O}$ du carboxyle et surtout probablement la chaîne de carbone de $-\dot{\text{C}}-$. La forte bande vers $6,6$ représente un carboxyle $6,5 \mu$ et un $\text{N}\equiv$ ($6,6 \mu$). La bande vers $7,0 \mu$ est un $>\text{C}=\text{O}$ et la forte bande à $7,5 \mu$ représente la chaîne de $-\dot{\text{C}}-$ ($7,5 \mu$).

Acide pyroglutamique (fig. 27).

L'acide glutamique chauffé à 190° donne par perte d'un H_2O l'acide pyroglutamique :



Le spectre de l'acide pyroglutamique (fig. 27) diffère essentiellement du spectre de l'acide glutamique. Il possède comme ce der-

nier une série de petites bandes vers 1,5 ; 1,9 ; 2,1 et 2,4 μ . Ensuite on voit apparaître un contrefort vers 2,9-3,0 μ dû probablement à un $N\equiv$. Vers 3,2-3,3 μ nous avons une forte bande due

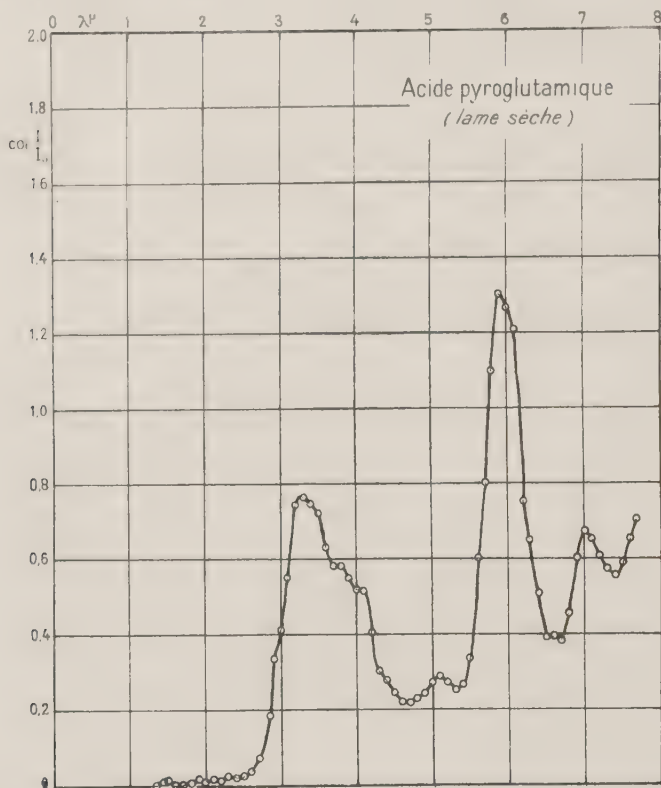


Fig. 27. — Spectre d'absorption infrarouge de l'Acide pyroglutamique.

à un $>C=O$ (3,2 μ) et à la chaîne de $-\dot{C}-$ (3,3 μ). Vers 3,5 μ il y a un contrefort qui est peut-être un $N\equiv$ (3,4 μ). Le contrefort 3,7 μ est un $>C=O$ (3,7 μ). La petite bande vers 4,1 μ peut correspondre à un $-\dot{C}-$ (4,2 μ). Le contrefort vers 3,3-3,4 μ peut être $N\equiv$ (4,3 μ) et un $>C=$ (4,4 μ). La bande vers 5,0 μ est encore la chaîne de $-\dot{C}-$ (5,0 μ). Vers 5,9 μ on voit apparaître dans l'acide pyroglutamique une bande extrêmement forte qui n'existe pas dans l'acide glutamique ; elle correspond à un $N\equiv$ (5,9 μ) et également à la chaîne de $-\dot{C}-$ (5-9 μ). La bande importante 6,6 de l'acide glutamique a presque totalement disparu dans l'acide pyroglutamique ; c'est en effet la bande correspondant à un carboxyle (6,5 μ) et à un $N\equiv$ (6,6 μ). La bande vers 7,0 μ présente un $>C=$ 7,0 μ). La bande 7,5 μ de l'acide glutamique a encore complètement disparu dans l'acide pyroglutamique.

5) Acide aspartique (Fig. 28). $\text{HOOC-CH}_2\text{-CH-COOH}$.



Nous avons fait le spectre de l'acide aspartique fondu entre deux lames de mica (épaisseur environ 0,01 m/m). Il est très transparent jusque vers 2,5 μ avec de nombreuses bandes 0,815 ; 0,860 ;

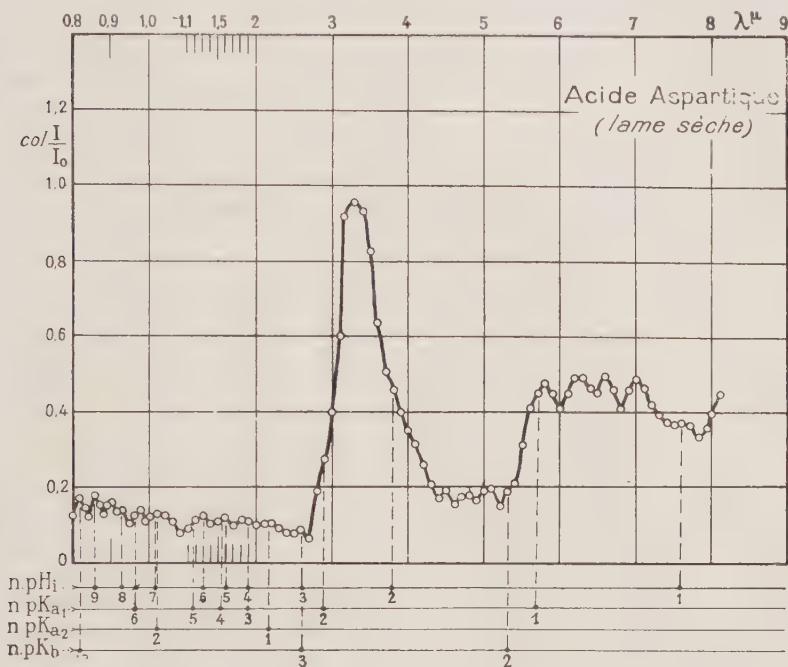
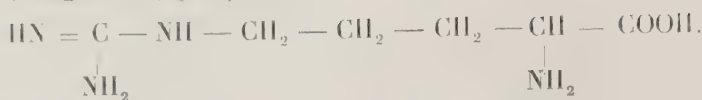


FIG. 28. — Spectre d'absorption infrarouge de l'Acide aspartique.

0,900 ; 0,930 ; 0,980 μ une large bande entre 1,0 et 1,08 μ , puis des bandes à 1,3 ; 1,6 et 1,8 μ une bande large entre 2,0 et 2,3 μ et une petite bande vers 2,6 μ . Cette dernière correspond à la chaîne de $-\dot{\text{C}}-$ (2,6 μ). L'acide aspartique présente ensuite un contrefort vers 2,8 μ , puis une forte bande vers 3,3 μ correspondant à un $>\text{C}=\text{O}$ (3,2 à la chaîne de $-\dot{\text{C}}-$ (3,3) et à un $\text{N}\equiv$ (3,4). Entre 3,8 et 4,2 nous avons un large contrefort complexe correspondant probablement à un $\text{N}\equiv$ (3,75 μ) et à la chaîne de $-\dot{\text{C}}-$ (4,2). Une série de petites bandes à 4,5 μ , 4,7 μ , 5,0 μ et 5,3 μ peuvent correspondre respectivement à un $\text{N}\equiv$ (4,6 μ), une trace d'eau (4,75 μ) et à la chaîne de $-\dot{\text{C}}-$ (5,0 μ). La forte bande vers 5,8 μ inclut à la fois un $>\text{C}=\text{O}$ (5,7 μ) la chaîne de $-\dot{\text{C}}-$ (5,9) et un $\text{N}\equiv$ (5,9 μ). La bande à 6,2 μ est un $\text{N}\equiv$ (6,2 μ). La bande à 7,0 μ est un $>\text{C}=\text{O}$ le contrefort écrasé entre 7,5 et 7,7 μ contient la chaîne de $-\dot{\text{C}}-$.

6) **Arginine** (fig. 29)



Nous avons étudié du carbonate de d-Arginine (HOFFMANN-LAROCHE). Une solution concentrée dans l'eau à chaud a été dessé-

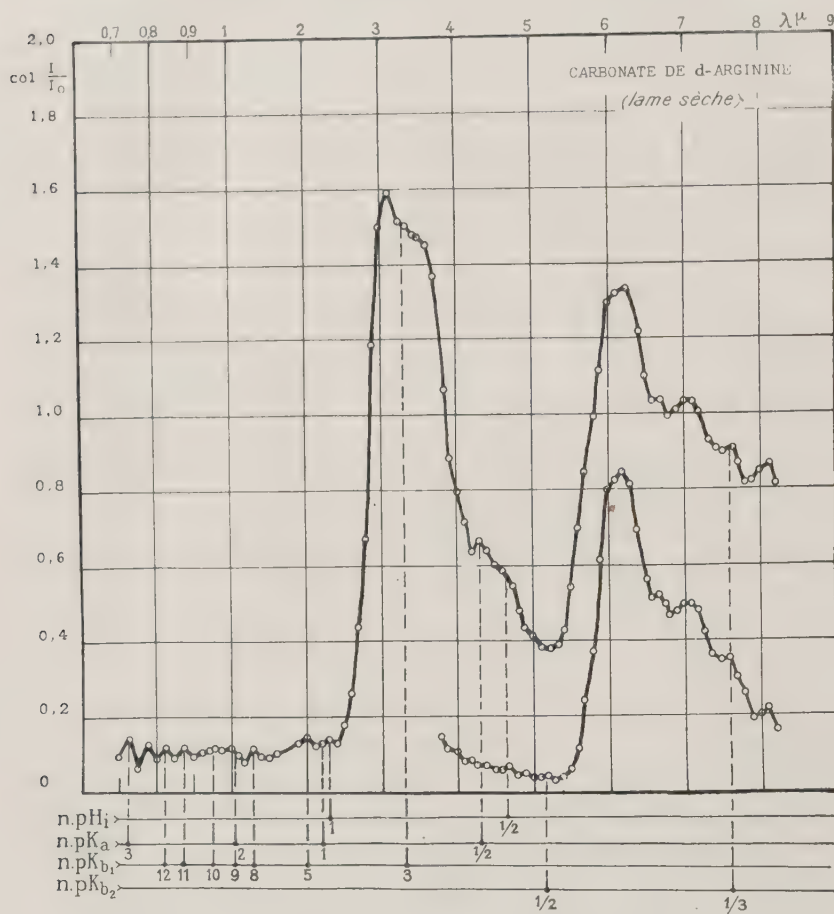


FIG. 29. — Spectre d'absorption infrarouge de l'Arginine.

chée sur une lame mince de mica. La couche obtenue homogène et transparente, gélatineuse, était très hygroscopique. Nous avons donc à côté du spectre de l'arginine les bandes caractéristiques de l'eau. L'épaisseur de la couche est environ 0,01 millimètre (courbe *a*). La courbe *b* a été obtenue par le même produit en couche plus mince. Les bandes caractéristiques sont les suivantes :

0,725, 0,775, 0,825, 0,875, 0,93, 0,97, 1,05, 1,3, 2,0, 2,1-2,3, 3,2-3,3, 3,5, 4,0, 4,3-4,4. Un contrefort de 4,6-4,8, 5,1; 6,1-6,2, 6,65, 7,0, 7,45-7,6, 8,1 μ . Elles peuvent correspondre aux groupements moléculaires suivants :

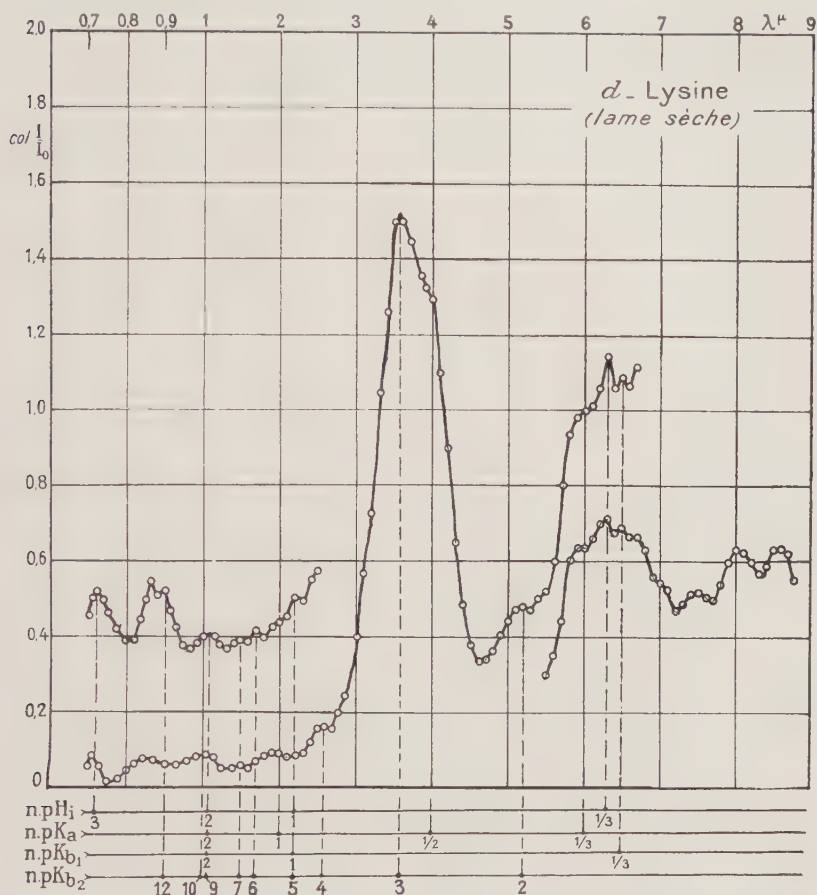
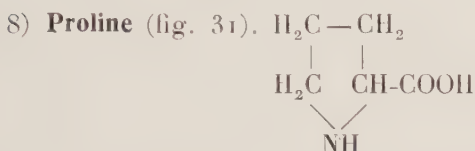


FIG. 30. — Spectre d'absorption infrarouge de la Lysine.

La bande 2,0 μ est caractéristique d'un $>C=O$ ou d'un $-N=$. La forte bande complexe 3,1-3,5 μ correspond à une composante de C et aussi à la fonction aminée (3,4 μ). La bande vers 4,3-4,4 μ représente en dehors d'un $N\equiv$ le CO_2 4,4 μ . Le contrefort vers 4,6 μ correspond à $-N=$. La forte bande complexe vers 6,1-6,2 μ est représentative d'un $>C=O$ et de $-\dot{C}-$. La bande 6,7 est un $-\dot{C}-$ et celle de 7,0 μ correspond à un $>C=$. Les bandes à 7,5 et 8,1 μ correspondent la première à $-\dot{C}-$, la dernière à un carboxyle.

La lysine est caractérisée par les bandes suivantes : 0,715, 0,870, 0,90. Une bande complexe de 1,0-1,3, 1,5-1,6, 1,75, 2,0-2,1, 2,15-2,3, 2,6, 3,1. Une bande très forte à 3,55 avec des contreforts à 4,0, 4,2, et 4,4 μ . Puis des bandes à 5,2, 5,5, 6,0, 6,3 et 6,5 μ .

La bande 2,6 μ correspond à un terme de la série de $-\dot{\text{C}}-$. La forte bande vers 3,5 μ est caractéristique du groupement $\text{C}=\text{O}$ du carboxyle, et surtout de la chaîne de $-\dot{\text{C}}-$. La bande à 5,2 μ correspond encore à un $-\dot{\text{C}}-$, de même que la bande à 6,0 μ . La bande à 6,3 μ semble correspondre à la fonction aminée 6,2 μ et la petite bande à 6,5 est un $>\text{C}=\text{O}$.



Nous avons employé une *d-l* proline (HOFFMANN-LAROCHE). Sur la figure 31, courbes *a* et *b*, sont représentés les spectres de deux solutions à 30 % dans l'eau distillée sous deux épaisseurs différentes : 0,02 m/m, l'autre épaisseur est inconnue. Le pH de la solution est 4,1. La courbe *c* représente le spectre d'une lame cristalline sèche obtenue en faisant cristalliser une solution de proline sur une lame de mica mince. Le dernier spectre nous montre une série de bandes entre 3,3-4,3 μ , elles sont presque entièrement cachées par la grande bande de l'eau à 3,1 μ . Sur la courbe *a*, pour mieux les faire ressortir nous avons tracé en pointillé l'allure de l'eau seule entre 3,2 et 4,5 μ .

La lame sèche étant une lame cristalline « trouble » présente encore un phénomène de diffusion se faisant remarquer surtout pour les faibles longueurs d'onde et allant jusqu'à 5 μ environ.

Les bandes observées sont les suivantes : 1,3, 1,5, 1,95, 2,1, 2,7, 3,0-3,1 3,3, 3,55, 3,9-4,0, 4,2, 4,4, 4,5, 5,1-5,2, 5,5, 6,2, 6,7, 7,15, 7,45, 7,7 et 7,95 μ . La bande à 3,0 traduit, avec un reste d'eau un $\text{N}^\equiv$. A 3,3 μ se trouve le $-\dot{\text{C}}-$. A 3,6 μ l'élément correspond vraisemblablement au $>\text{C}=\text{O}$ du carboxyle (3,7 μ).

A 4,6 μ on retrouve un $\text{N}^\equiv$, avec peut-être un reste du carboxyle à 4,5 μ . A 5,2 μ se trouve un $>\text{C}=\text{O}$ du carboxyle. La petite bande 5,5 μ est peut-être due à celle du $>\text{C}=\text{O}$ (5,4). Puis la grande bande à 6,2 μ est visiblement le $>\text{C}=\text{O}$. Le petit contrefort à 6,7 μ le $-\dot{\text{C}}-$; à 7,2 $\text{N}^\equiv$ de la fonction imine. Le contrefort à 7,4 μ peut être le $-\dot{\text{C}}-$ de même à 7,7 μ , à 7,9 μ le $>\text{C}=\text{O}$.

Si l'on compare le spectre de la proline à celui du pyrrol (COBLENTZ) on retrouve un certain nombre de bandes $N\equiv$ (3,0, 4,7, 5,9) ; et de $>C=$ (3,2, 4,4, 7,1, 7,9 μ). Mais il doit manquer dans le pyrrol la bande dérivant du carboxyle. Effectivement on ne trouve pas de bande à 3,7 μ , ni à 5,3 ni à 6,1 μ qui sont bien représentatives du $>C=O$ du carboxyle, d'autre part il n'y a pas dans la proline de bande à 6,5 μ correspondant à celle du pyrrol.

9) **Phénylalanine** (fig. 32). $C_6H_5-CH_2-CH-COOH$



Nous avons fait le spectre de la phénylalanine (SIEGFRIED) en laissant cristalliser une solution concentrée à chaud sur une lame mince de mica. Nous avons obtenu ainsi une lame sèche cristalline « trouble ». Les bandes observées sont les suivantes : 1,4, 1,9, 2,3, 2,6, 3,0, 3,25, 3,8-3,9. Une bande large de 4,4-4,6, 5,0, 5,3.

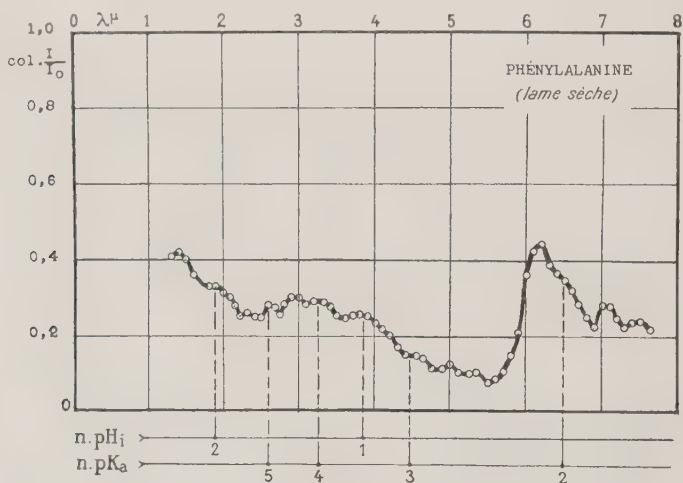
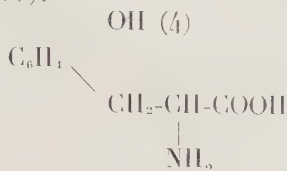


Fig. 32. — Spectre d'absorption infrarouge de la Phénylalanine.

Puis une bande très forte à 6,2 μ avec un contrefort à 6,5 et finalement deux bandes à 7,0 et 7,45. Les bandes à 2,6 μ ainsi que celle à 3,0 μ correspondent à $-CH_2-$. Celle de 3,2-3,3 à un $-CH-$ (3,2 μ) et à un $>C=O$ (3,2). La bande à 5,0 μ également à un $-CH_2-$ et celle à 5,4 à un $>C=$ (5,4 μ) de même la forte bande à 6,2 μ $>C=O$ (6,2 μ). Le contrefort à 6,5 μ est un $>C=O$ et celle de 7,0 μ $>C=O$ (7,0 μ). La bande à 7,5 μ est probablement un $-CH_2-$.

10) **Tyrosine** (fig. 33).



Le produit employé était un produit pur (préparation de M^{lle} LE BRETON). Nous avons laissé cristalliser une solution concentrée à chaud sur lame de mica. La lame cristalline se présentait sous

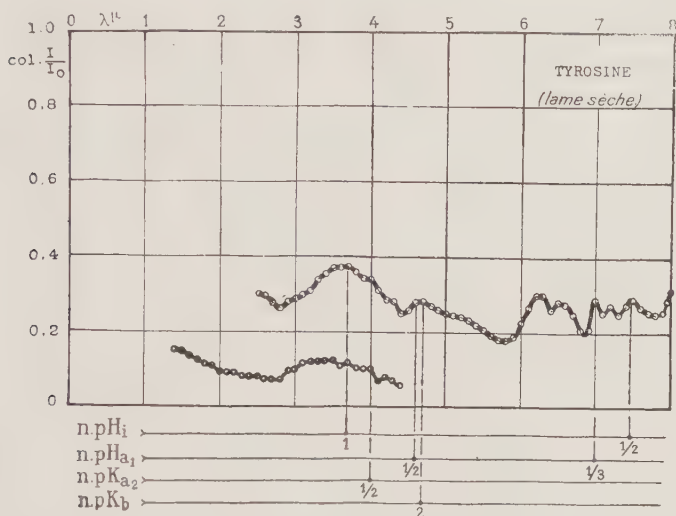


FIG. 33. — Spectre d'absorption infrarouge de la Tyrosine.

forme de fines aiguilles, elle était donc « trouble », trouble qui se fait sentir jusqu'à 6 μ environ. L'épaisseur de la lame est environ 0,01 m/m. Les bandes d'absorption observées sont les suivantes : 3,0, 3,3. Puis une forte bande complexe de 3,5-3,7, 4,0, 4,25, 4,6-4,7, 5,1, 6,25, 6,5, 7,0, 7,2 et 7,46 μ .

La bande vers 3,5-3-7 μ correspond à un $>C=O$ et à un $N\equiv$. A 4,0 μ se trouverait un $-N\equiv$, peut être dû à une hydrolyse de la fonction aminée. 4,3 μ est représentative de la chaîne de $-\dot{C}-$. La bande 4,6-4,7 avec une trace d'eau probable (4,75) peut signaler $N\equiv$ (4,6 μ). Le contrefort 5,3 μ mettait en jeu un $-N\equiv$ et un $>C=O$ du carboxyle. La bande importante à 6,25 peut représenter outre un $-OH$, les $C=$ et $N\equiv$ de l'amine. A 6,5-6,6 on retrouve cet azote animé ainsi qu'un $>C=O$. A 7,0 μ est une bande représentative d'un $>C=O$, à 7,2 μ $N\equiv$ et à 7,5 μ le $-\dot{C}-$.

11) **Histidine** (fig. 34).

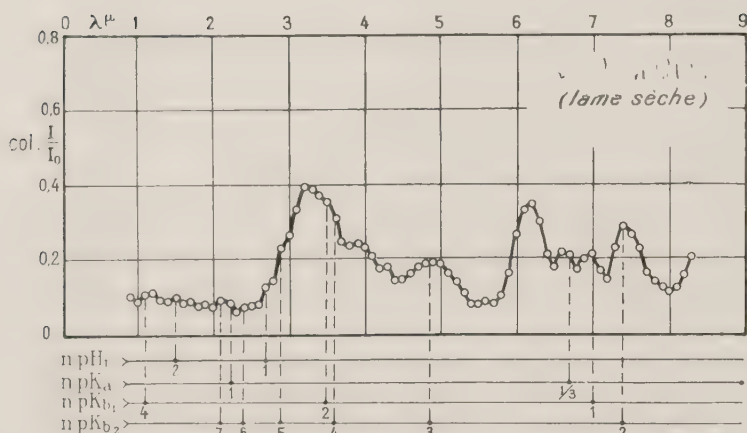
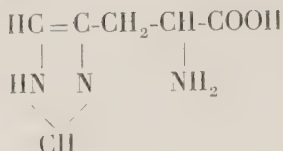


Fig. 34. Spectre d'absorption infrarouge de l'Histidine.

Nous avons étudié du monochlorhydrate de *l*-histidine (HOFFMANN-LAROCHE) dissous dans l'eau distillée. La solution a été portée à ébullition pendant quelques minutes, puis étendue sur une lame mince de mica. L'ébullition est nécessaire pour obtenir du monochlorhydrate pur, sans ébullition on obtient un mélange de mono- et de dichlorhydrate (1).

Les bandes d'absorption sont les suivantes 1,1 1,4-1,5, 1,65, 1,85, 2,1, 2,4-2,5, 2,7. Une forte bande complexe entre 3,2 et 3,7 et entre 3,6-4,1. Une bande à 4,25 puis une bande intense complexe entre 4,8-5 ; 5,6, 6,2, 6,65, 7,0 puis une forte bande à 7,4 μ. Les bandes 2,1 et 2,5 μ de l'histidine peuvent correspondre à des $\text{N}=\text{C}$. La forte bande complexe entre 3,2 et 3,7 μ renferme le $\text{C}=\text{O}$, $\text{>C}=\text{O}$ et peut-être un $\text{N}=\text{C}$ (3,75 μ). La bande 4,3 correspond au chlore. A 4,9 nous avons un $\text{>C}=\text{O}$ et un $\text{N}=\text{C}$. La forte bande à 6,2 correspond à un $\text{>C}=\text{O}$, celle de 6,7 μ à un $\text{C}=\text{O}$ (6,7 μ) et celle de 7,0 μ à un $\text{>C}=\text{O}$. La forte bande vers 7,4 μ est l'élément significatif de $\text{=C}=\text{O}$ (7,3) et $\text{C}=\text{O}$ (7,5).

(1) ABDERHALDEN. — *Biochemisches Handbuch*, 1911, p. 719.

12) **Cystine** (fig. 35). $\text{CH}_2\text{—S—S—CH}_2$

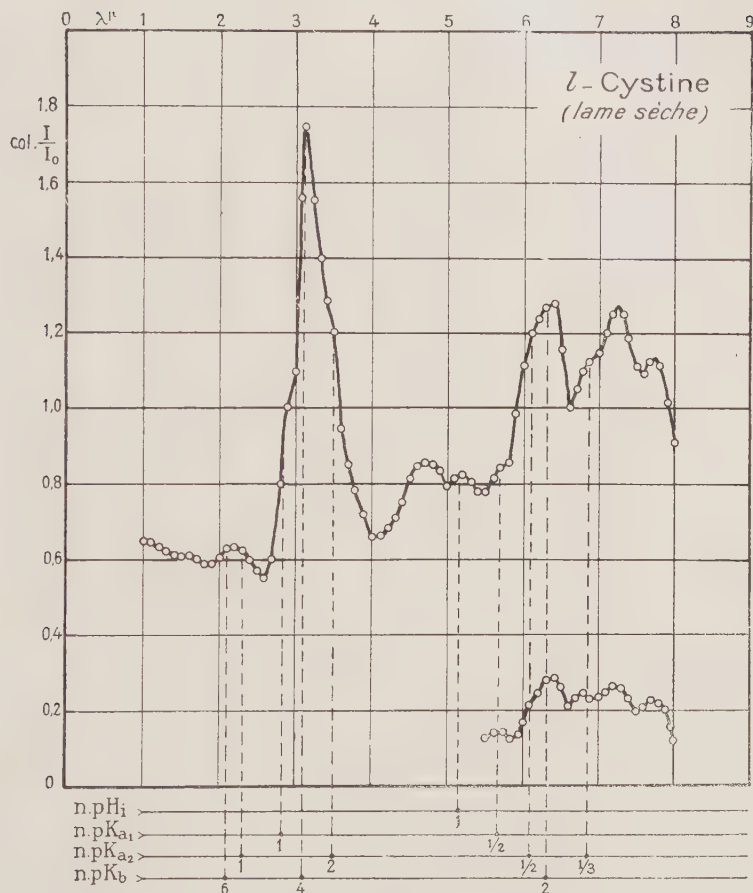
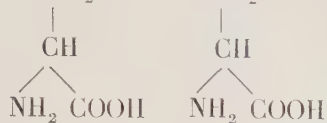


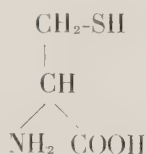
Fig. 35. Spectre d'absorption infrarouge de la Cystine.

La cystine employée est une *l*-cystine (HOFFMANN-LAROCHE). Comme elle est très difficilement soluble dans l'eau, nous avons légèrement alcalinisé cette dernière et laissé cristalliser sur lame de mica. Nous avons ainsi de nouveau une lame « trouble ». En l'employant, elle n'était pas encore complètement sèche comme le montrent les bandes de l'eau fortement visibles encore. L'épaisseur de la lame est 0,01 millimètre environ. La courbe *b* a été

obtenue avec la même solution, mais en lame plus mince. On a ainsi obtenu les bandes suivantes : 1,5-1,6, 2,1-2,2, 2,8, 3,5, 3,9. La bande à 4,75 est une bande de l'eau 5,15, 5,60, 6,3-6,4, 6,75, 7,0, 7,25, 7,75 μ .

La première bande importante à 2,15 est interprétable comme étant une bande de $N\equiv$ (2,1). La grande bande à 3,1, outre des traces d'eau (3,0), met en jeu un $>C=$ à 3,2 et pourrait être représentative du carboxyle ; la bande 2,98 de $N=$ est sans doute aussi contenue. A 3,4-3,5 nous trouvons la bande caractéristique des chaînes de $-\dot{C}-$. A 4,7 est une bande importante qui correspond à la fois à des restes d'eau et à une bande caractéristique de $S\equiv$ (4,7) ; mais d'après l'ensemble du spectre, cette bande est trop importante pour être seulement donnée par le reste d'eau, et elle traduit visiblement le Soufre de la cystine. En coïncidence avec la bande de 5,2, existe encore une bande du Soufre (5,2) ; remarquons qu'il y a d'ailleurs aussi à 5,1 une bande de la chaîne du $-\dot{C}-$ et à 5,2 une bande $N\equiv$, qui pourrait être donnée par une hydratation partielle de l'amine. La bande de 5,7 est encore une bande du Soufre, et aussi du carboxyle (5,7). La bande suivante à 6,4, avec un léger contrefort sur 6,1, met en jeu un reste d'eau (6,1), un $N\equiv$ de fonction aminée (6,2), et un S (6,2). La bande de 6,8 est une bande de chaîne de $-\dot{C}-$. Puis la bande de 7,25 peut mettre en jeu ensemble une fonction aminée à 7,2, un S à 7,2, un carboxyle à 7,3 et peut-être aussi un reste d' H_2O à 7,3. Avec 7,8 coïncide la bande d'une chaîne de $-\dot{C}-$.

13) **Cystéine** (fig. 36)



On a employé du chylorhydrate de cystéine $C_3H_8NSO_2HCl$ (HOFFMANN-LAROCHE) en solution à 30 % dans l'eau distillée. Le pH de cette solution était 3,5. La présence de l'eau cache en partie les bandes, notamment une série de bandes assez intenses entre 3,3 et 4,5 μ . Sur la fig. 36, nous avons indiqué en pointillé le spectre de l'eau seule entre ces valeurs, pour faire ressortir les bandes de la cystéine.

La cystéine a ainsi des bandes à 1,8 ; 2,05-2,3 ; 2,6 ; 3,3 ; 3,7 ; 4,0-4,5 ; 5,0-5,2 ; 5,7 ; 6,55 ; 6,8-7,3 ; 7,4-7,6. La bande 4,7 du $S=$ persiste, mais celle à 5,2 est extrêmement atténuée, et celle à 5,7 est à peine perceptible dans une inflexion. La grande bande, déplacée de 6,4 à 6,0, ne représente plus qu'une chaîne de $-\dot{C}-$, et

de l'eau. Il est possible que la bande à 7,5 soit encore un S=. En somme, autant qu'on peut en juger avec la différence d'état des produits (la cystéine est une solution aqueuse, la cystéine une lame sèche), la séparation en deux moitiés des éléments

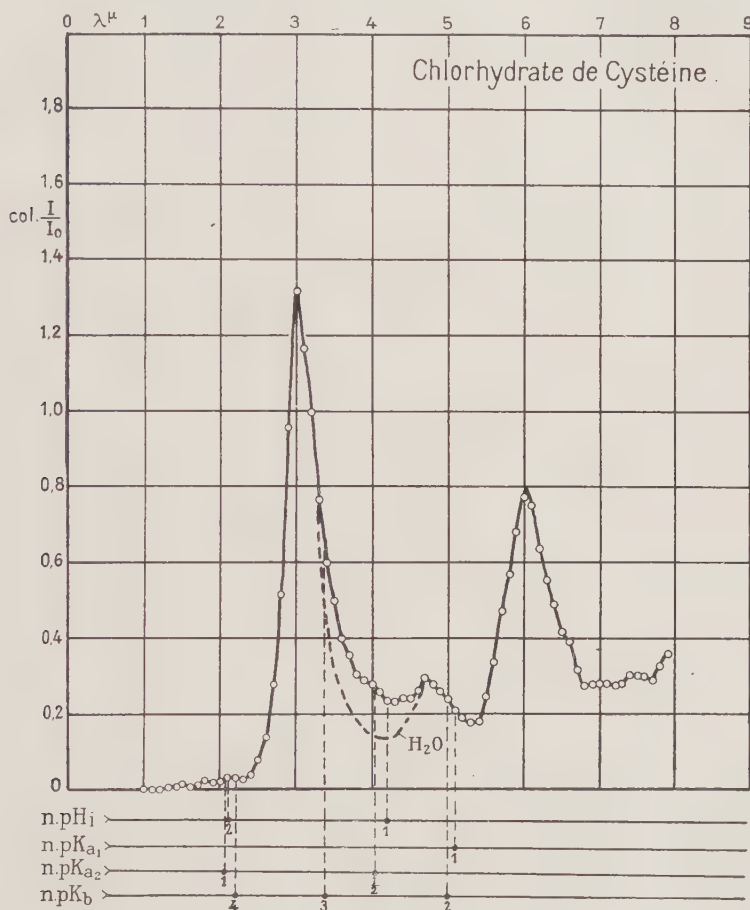


FIG. 36. — Spectre d'absorption infrarouge de la Cystéine.

de la cystéine par la réduction paraît se traduire par des modifications assez importantes, si l'on tient compte que l'un des spectres est obtenu sur une solution aqueuse et l'autre sur une lame sèche. Les différences portent principalement sur la bande 5,2 et le complexe des bandes entre 7 et 8 μ.

E) SUBSTANCES AUXILIAIRES.

En vue de compléter l'étude des protéines des substances biologiques ainsi que la vérification de la relation établie par F. VLÈS entre les différentes constantes physico-chimiques d'un corps et ses bandes d'absorption infrarouge (voir p. 78) nous avons étudié une série d'autres substances : la dicétopipérazine, une hématine,

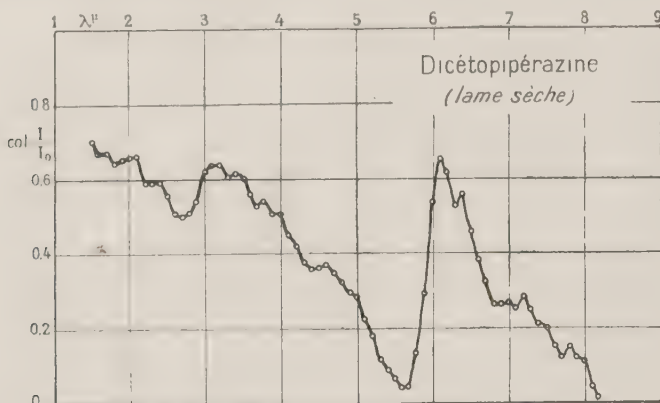
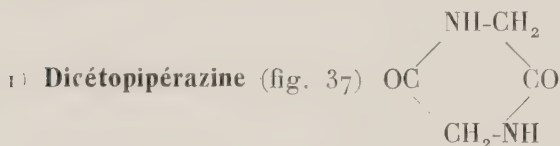


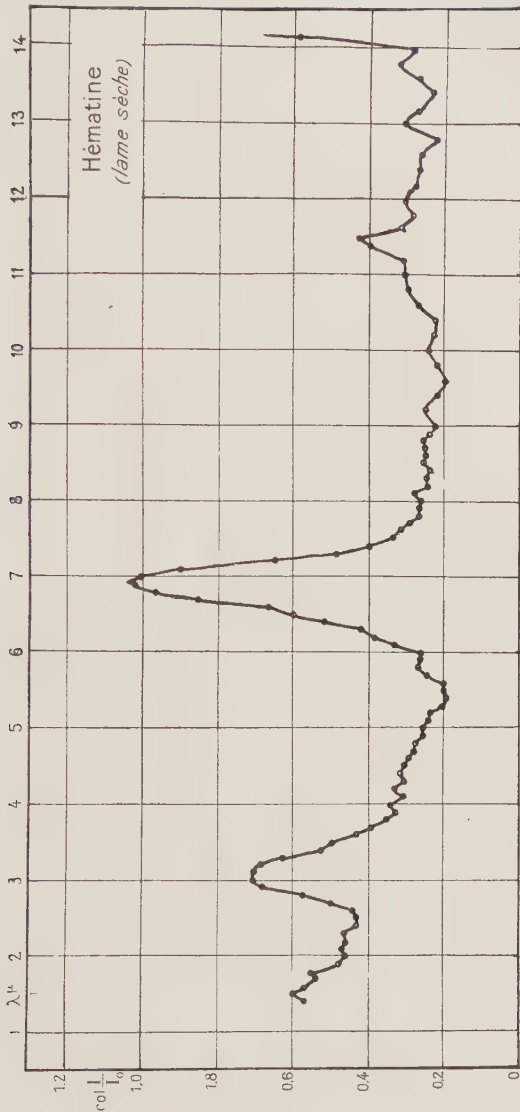
Fig. 37. — Spectre d'absorption infrarouge de la Dicétopipérazine.

l'hydroxylamine, l'hydrazine, des cholestérols et du dinitro (2-4)-o-crésol.



Une solution de dicétopipérazine (HOFFMANN-LAROCHE) à chaud fut laissée cristalliser sur lame de mica. La lame cristalline ainsi obtenue était extrêmement trouble, aussi avons-nous écrasé la couche avec un papier filtre fin, afin d'avoir une couche plus homogène et pas trop trouble. L'effet de diffusion se fait sentir dans le spectre jusque vers 5,5. Il est donc difficile de tirer des conclusions sur l'importance des bandes. La bande vers 2,1 μ correspond à un $\text{N}^\equiv$, celle vers 2,4 μ à la chaîne de $-\dot{\text{C}}-$ (2,4 μ). À 3,2 μ nous avons un $>\text{C}=\text{O}$ et à 3,4 μ un $\text{N}^\equiv$; à 3,7 μ un et le contrefort à 5,0 est un $-\dot{\text{C}}-$ (5,0 μ). La forte bande vers 6,0 μ peut correspondre à un $>\text{C}=\text{O}$ (6,1 μ) et le contrefort vers 6,3 μ $>\text{C}=\text{O}$ (3,7 μ). La bande vers 4,6 μ correspond encore à un $\text{N}^\equiv$; peut être un $\text{N}^\equiv$ (6,2 μ). Vers 7,0 μ nous avons un $>\text{C}-$ (7,0). La bande à 7,2 est un $\text{N}^\equiv$ (7,2 μ), le contrefort à 7,5 μ un $-\dot{\text{C}}-$ (7,5 μ) et la petite bande vers 7,8 μ peut correspondre à la chaîne de C (7,9 μ).

2) **Hématine** (fig. 38). — L'étude de l'oxyhémoglobine a demandé de connaître le spectre du groupement prosthétique



Pl. 38. — Spectre d'absorption infrarouge de l'hématine.

hématinique. Nous l'avons obtenue en étudiant une hémine pure de Cheval (préparation de M. VLÈS). La substance fut dissoute dans la soude N et laissée cristalliser sur lame de sel gemme. Nous avons pu obtenir ainsi un spectre jusqu'à 14,2 μ . L'hématine ainsi obtenue est relativement transparente avec des bandes importantes vers 3,0, 6,9, 11,5, 13,0 et 13,8 μ . A partir de 14 μ s'annonce de nouveau une bande très forte.

3) **Hydroxylamine** (fig. 39). — Le spectre de ce corps a été obtenu en fondant du chlorhydrate d'hydroxylamine (POULENC) entre deux lames de mica ; la substance se présente ainsi sous

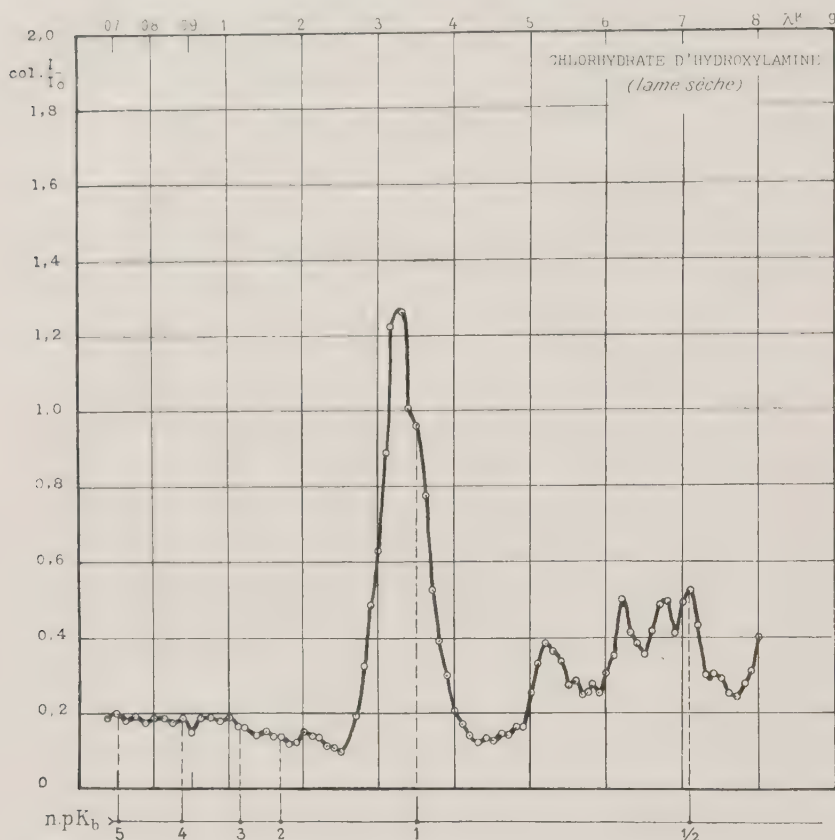


FIG. 39. — Spectre d'absorption infrarouge de l'Hydroxylamine.

forme de lame cristalline, un effet de diffusion se fait donc sentir pour les petites longueurs d'onde.

La substance est assez transparente jusqu'à 2,5 avec une série de bandes faibles à 0,700, 0,750 μ ; entre 0,800 et 0,825 une bande large, puis des bandes à 0,880, 0,925, 0,95, 1,0, 1,15, 1,5, 1,7 et 1,8 μ . A 3,3 μ se place la bande intense de $\text{-}\dot{\text{C}}\text{-}$ avec un contrefort sur 3,5 correspondant au pK_B (voir p. 78). Entre 4 et 5 μ l'hydroxylamine est de nouveau très transparent avec une série de petites bandes. A 6,2, 6,75 et 7,1 μ des bandes fortes et de faibles bandes à 7,4 et 7,8 μ .

3) **Hydrazine** (fig. 40). — Nous avons pris le spectre d'une lame de chlorhydrate d'hydrazine (POULENC) obtenu par fusion entre deux lames de mica. L'épaisseur de la bande était inférieure à

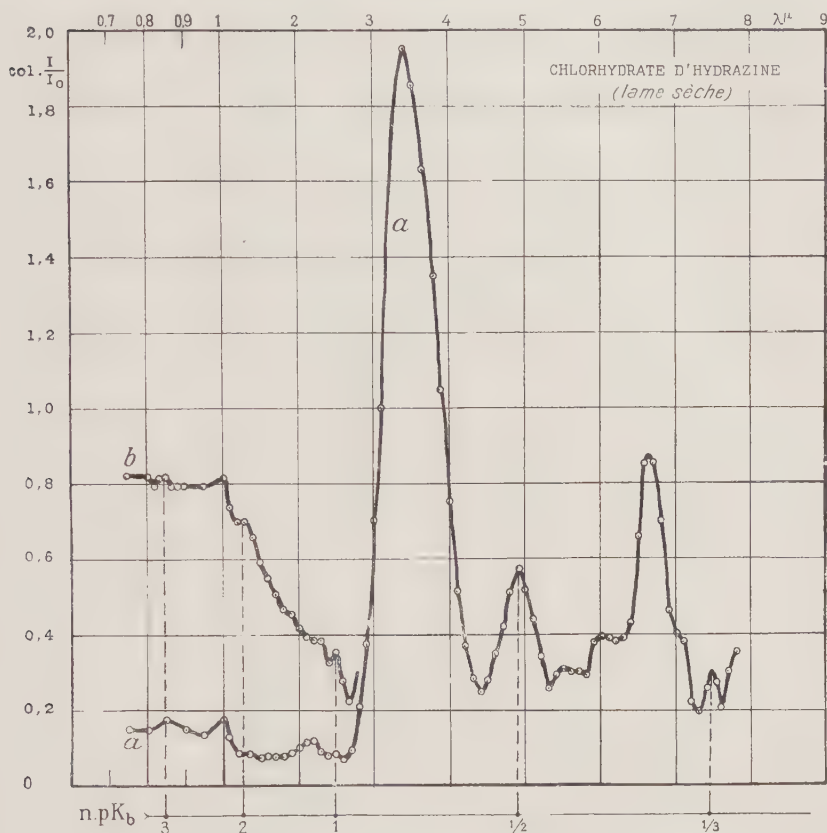


FIG. 40. Spectre d'absorption infrarouge de l'Hydrazine.

0,01 m/m. La figure 40, courbe b, est le spectre d'une lame plus épaisse où un phénomène de diffusion très intense se fait sentir. Jusqu'à $2,5 \mu$ l'hydrazine est également très transparente avec des bandes à $0,85$, $1,0$, $1,25$, $1,9$, $2,2$, et $2,5 \mu$. Vers $3,4 \mu$ la bande extrêmement intense de $-\dot{\text{C}}-$. Puis une bande vers $4,9 \mu$ et deux petites bandes à $5,5$ et $6,0 \mu$. Vers $6,65 \mu$ une bande forte, et deux bandes à $7,0$ et $7,4 \mu$.

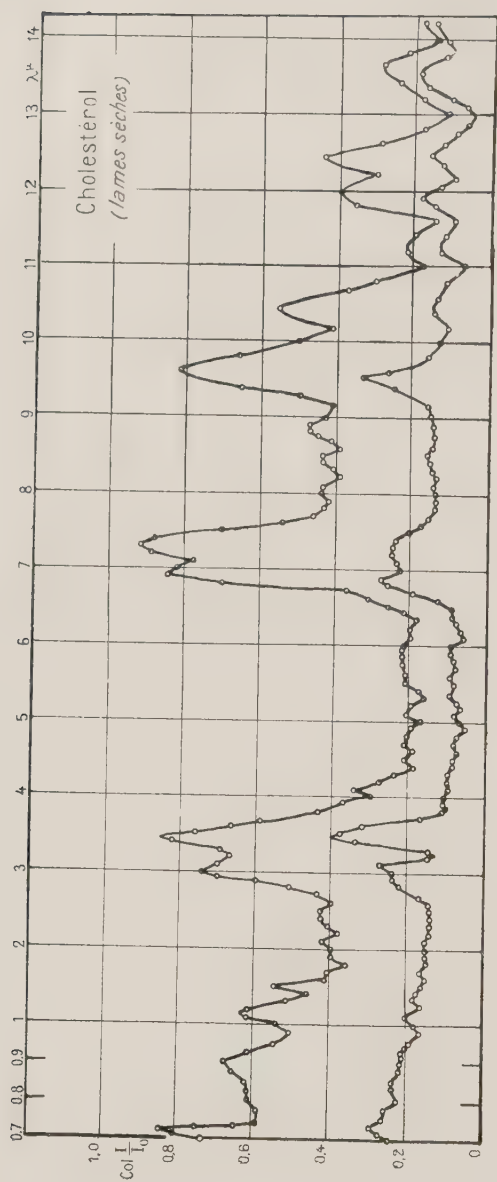


Fig. 41. Spectre d'absorption infrarouge du Cholestérol.

5) Cholestérol (fig. 41).

Nous avons étudié deux échantillons de ce corps : un cholestérol Boehringer (INGELHEIM) et un cholestérol préparé par A. Ugo (1). Les spectres ont été obtenus en partant de lames sèches sur sel gemme obtenu par évaporation de solutions de cholestérol dans du chloroforme. On a ainsi pu obtenir les spectres à partir du visible jusqu'à 14μ . Les lames étaient légèrement « troubles ». Le cholestérol, qui est assez transparent à l'infrarouge (épaisseur de la lame qui a fourni la courbe du bas (INGELHEIM) environ $0,005 \text{ mm.}$) présente de nombreuses bandes d'absorption parmi lesquelles, d'après le tableau de répartition de F. VLÈS, nous avons pu identifier les suivantes : la bande vers $0,9 \mu$ correspond à la série des chaînes de $-\dot{\text{C}}-$ ($0,86 \mu$). La petite bande à $1,7 \mu$ est un $-\text{OH}$ ($1,7 \mu$) et peut correspondre à $-\dot{\text{C}}-$. A $2,4 \mu$ nous avons un $-\text{OH}$ ($2,3 \mu$) et la double liaison $\text{C}=\text{O}$. A $3,0 \mu$ un $-\text{OH}$. Les bandes à $3,4$; $5,1$ et $6,0 \mu$ correspondent à des termes de la série de $-\dot{\text{C}}-$. A $5,4 \mu$ la double liaison $\text{C}=\text{O}$ ($5,4 \mu$). A $6,2 \mu$ il y a un $-\text{OH}$ et $\text{C}=\text{O}$. La grande bande à $6,9 \mu$ correspond à un $-\dot{\text{C}}-$ et à $-\text{OH}$, il en est de même de la bande à $7,3 \mu$. A $7,9 \mu$ la double liaison $\text{C}=\text{O}$ ($7,9 \mu$). La grande bande à $9,6 \mu$ se compose de la bande des $-\dot{\text{C}}-$ ($9,4$ et de $-\text{OH}$ ($9,7$) ; la bande à $10,5 \mu$ de $-\dot{\text{C}}-$ ($10,3$) et $\text{C}=\text{O}$ ($10,6 \mu$).

IV. COMPARAISON QUALITATIVE DU SPECTRE DE PROTEINES AVEC CEUX DES ACIDES AMINÉS CONSTITUTIFS.

Pour pouvoir effectuer une telle analyse, il a été indispensable de posséder un bilan au moins approximatif des proportions des divers acides aminés constitutifs les plus importants dans chacune des substances protéiques étudiées. Nous nous sommes reportés pour cela à un certain nombre d'analyses classiques de substances protéiques, qui nous ont permis de déterminer dans chacune des substances les quatre ou cinq acides aminés principaux auxquels on pouvait en première approximation ramener la structure

(1) « La préparation (à partir de l'échantillon Boehringer) d'un cholestérol pur a été faite par l'un de nous : en réalisant d'abord au moyen du chlorure de thionyle le chlorure de cholestéryle, et en régénérant le cholestérol à partir de celui-ci par le zinc et l'acide acétique ; l'acétate de cholestéryle est alors saponifié par NaOH et purifié par trois cristallisations dans l'alcool. » (F. VLÈS et A. Ugo, *C. R. Soc. biol.*, 73. 227. 1936.)

de la molécule ; en règle générale nous avons conservé tous les acides aminés atteignant ou dépassant 5 % en poids dans la molécule totale. On sait (49) qu'une classification d'après l'importance spectrale des divers constituants d'un mélange, ne peut être effectuée en toute rigueur qu'en utilisant le produit Kc de la concen-

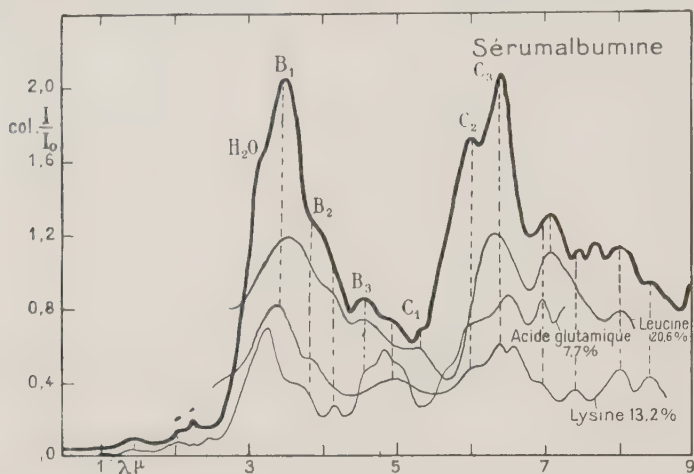


Fig. 42. — Comparaison qualitative du spectre de la sérumalbumine avec ceux des acides aminés constitutifs.

tration c dans le mélange par le coefficient d'absorption K des constituants pour un λ donné. Malheureusement pour beaucoup des spectres infrarouges précédents, des coefficients d'absorption définis au moyen de la loi de BEER n'ont pas pu être établis avec une précision suffisante (milieux troubles, etc.), et c'est en quelque sorte qualitativement que nous avons dû classer les constituants de premier ordre devant être introduits dans le spectre des différentes molécules protéiques.

Ainsi, en utilisant les principes précédents, la *sérumalbumine* peut être comparée à un mélange de leucine, de lysine, d'acide glutamique ; les *globulines*, à des mélanges de leucine, d'acide glutamique et d'arginine ; la *gélatine*, à un mélange de glycolle et de proline ; la *caséine*, d'acide glutamique, de leucine, de lysine ; la *globine*, de leucine et d'histidine. Pour passer à l'*hémoglobine*, nous avons dû utiliser en outre un spectre du groupement prosthétique obtenu à partir de cristaux d'hémine.

1) **Sérumalbumine.** — Les trois acides aminés les plus abondants obtenus par l'hydrolyse de la sérumalbumine (ABDERHALDEN, MÖRNER, etc.) (1), (25) sont en effet la leucine (20,2 %) la lysine (13,2) et l'acide glutamique (7,7). Par ordre d'importance, les autres (ar-

ginine, histidine, acide aspartique, phényl-alanine, tyrosine, tryptophane, proline, sérine) sont en quantités petites, inférieures à 5 %. Il n'y a pas de glycofolle. La comparaison des trois courbes, lysine, acide glutamique, leucine, avec la sérualbumine (fig. 42) montre que la bande B_1 ($3\mu,5$) de la sérualbumine représente la

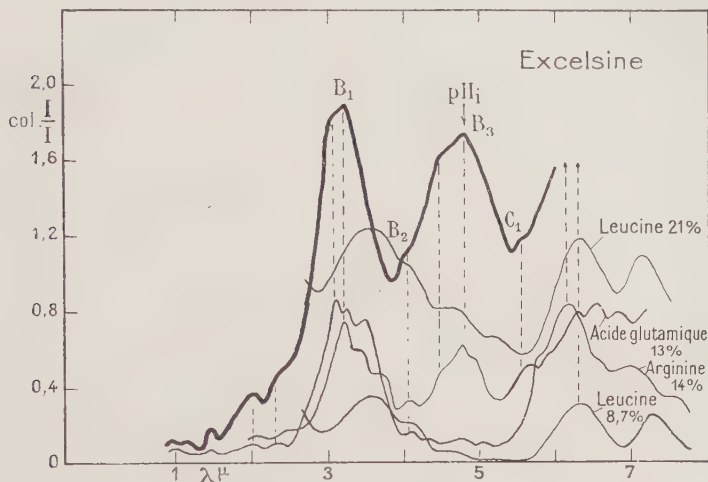


FIG. 43. — Comparaison qualitative du spectre de l'excelsine avec ceux des acides aminés constitutifs.

bande de la lysine et celle de la leucine. La bande B_2 ($4,1\mu$) correspond au contrefort de la lysine. La bande B_3 à $4\mu,5$ est très probablement le représentant de la bande correspondante de la leucine, et peut être aussi de l'acide glutamique, quoique ceci soit moins probable puisque la bande fondamentale à $3\mu,2$ de celui-ci s'est à peine manifestée dans la bande à $3,5\mu$. La bande C_2 de la sérine à $6\mu,0$ paraît correspondre à la bande $6,0$ de la leucine. Quant à la bande C_3 ($6\mu,5$) de la sérine, elle peut inclure les bandes à $6\mu,25$ de la leucine, $6\mu,3$ de la lysine et peut être $6\mu,6$ de l'acide glutamique. La bande à $7\mu,1$ correspond à la bande $7\mu,1$ de la leucine et de la lysine et probablement aussi à la bande $7\mu,0$ de l'acide glutamique. La bande à $7\mu,4$ correspond à la lysine ($7\mu,4$), la leucine ($7\mu,4$) et à l'acide glutamique ($7\mu,5$). La bande à $7\mu,6$ inclut la bande à $7\mu,6$ de l'arginine. La bande à $7\mu,9$ correspond à la bande à $8\mu,0$ de la lysine et de l'acide glutamique et à la bande à $8\mu,1$ de la leucine. De même la bande à $2\mu,25$ de la sérine peut être supportée par la bande à $2\mu,3$ de la leucine celle à $2\mu,1$ de la leucine, l'acide glutamique ayant une bande à $1\mu,9$ et une autre à $2\mu,4$. En somme, au point de vue

spectral, dans le spectre de la sérumalbumine il transparait surtout la leucine et la lysine.

« **Globulines.** — Les acides aminés les plus abondants par ordre d'importance dans l'*édestine* ⁽¹⁾ (SPIEGEL-ADOLF (34), LOONEY (23), ABDERHALDEN (1), KOSSEL et PLATTEN (22), SCHULZE-WINTERSTEIN (33), OSBORNE-LIDDLE (26)) sont la leucine (20 μ ,9), l'acide glutamique (14 μ ,0), l'arginine (14 μ ,2) ; et dans l'*excelsine* (fig. 43) (OSBORNE (26 a)), l'arginine (14 μ ,3), l'acide glutamique (12 μ ,9) et la leucine (8 μ ,7). La bande B₁ de l'*excelsine* à 3 μ ,2 paraît

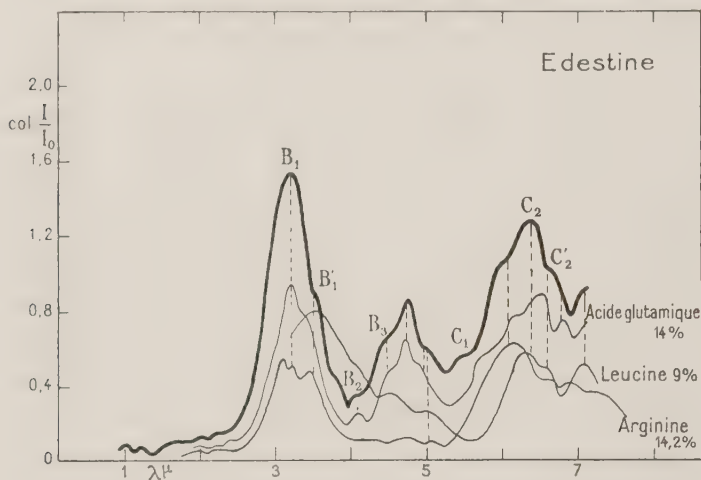


FIG. 44. — Comparaison qualitative du spectre de l'édestine avec ceux des acides aminés constitutifs.

dépendre de l'arginine (3 μ ,1) et de l'acide glutamique (3 μ ,2). La bande B₂ à 4 μ ,2 et la bande B₃ à 4 μ ,8 reproduisent le gabarit de la bande correspondante de l'acide glutamique. La bande fondamentale de la leucine à 3 μ ,5 ne se manifeste pas. Quant à la bande C₁ (5 μ ,5) de l'*excelsine*, elle paraît aussi due à l'acide glutamique. La bande supérieure à 6 μ , dont il nous manque la terminaison, pourrait être due à la superposition des trois systèmes de bandes de l'arginine, de la leucine et de l'acide glutamique.

(1) Les multiples analyses d'*édestine* données par la littérature sont très dissemblables ; il en est de même d'ailleurs des points isoélectriques. On a visiblement affaire à des corps qui ne sont pas semblables. Nous nous sommes rattachés au type moyen donné par la plupart des auteurs, mais il faut évidemment faire des réserves. Les chiffres de COHN « (9) correspondent à : leucine 20,9 ; acide glutamique 19, 16 ; arginine 15, 7 ; acide aspartique 10,2. Les valeurs d'OSBORNE (26 b) (ABDERHALDEN) (1) sont : leucine 20,9 ; arginine 14,2 ; acide glutamique 14,0 ; acide aspartique 4,5.

L'excelsine nous montre donc dans son spectre une prédominance de l'acide glutamique.

Quant à l'excelsine (fig. 44), les caractères généraux de l'acide

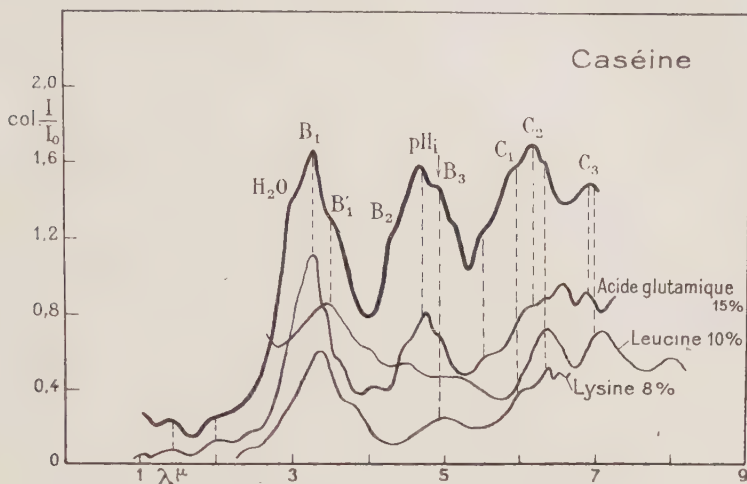


FIG. 45. — Comparaison qualitative du spectre de la caséine avec ceux des acides aminés constitutifs.

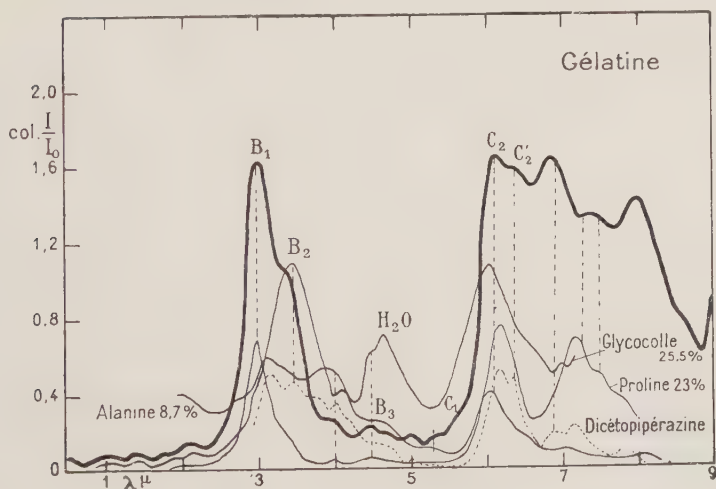


FIG. 46. — Comparaison qualitative du spectre de la gélatine avec ceux des acides aminés constitutifs.

glutamique et de l'arginine se retrouvent encore, surtout dans les bandes B_3 ($4\mu,8$) et C_1 ($5\mu,6$). D'autre part la bande B_1 à $3\mu,8$ manifeste sans doute la présence de la leucine ($3\mu,6$) plus con-

centrée dans ce cas. La bande à $6\mu,3$ de l'édestine représente les bandes de l'acide glutamique ($6\mu,3$) et de la leucine ($6\mu,3$), pendant que le contrefort à $6\mu,0$ paraît être dû à la bande $6\mu,3$ de l'arginine et peut-être au contrefort $6\mu,1$ de l'acide glutamique. La bande C_2 à $6\mu,6$ représente le sommet important ($6\mu,6$) de l'acide glutamique. Quant à la bande C_3 supérieure à 7μ elle peut être surtout dominée par la bande $7\mu,1$ de la leucine.

3) **Caséine** (fig. 45). — La caséine comprend comme éléments principaux l'acide glutamique (15,6 %), la leucine (10,5), et la lysine (7,7). La proline (6,7) vient immédiatement après. La bande B_1 ($3\mu,3$) de la caséine est celle de l'acide glutamique; B_1 à $3\mu,7$, celle de la leucine ($3\mu,6$). Les bandes B_2 à $4\mu,3$ et B_3 vers $4\mu,9$ semblent être dues principalement à l'acide glutamique, avec peut-être aussi une trace due à la proline ($4\mu,5$). La bande C_1 de la caséine à $5\mu,5$ peut être un contrefort de l'acide glutamique, et la bande C_2 à $6\mu,2$ due à l'ensemble acide glutamique (contrefort $6\mu,3$), leucine $6\mu,3$, et surtout proline $6\mu,2$ et lysine $6\mu,3$. La bande C_3 à $6\mu,9$ de la caséine peut être due à la bande de la leucine $7\mu,1$, de l'acide glutamique $6\mu,9$ et de la proline $7\mu,1$.

4) **Gélatine** (fig. 46). — La gélatine renferme principalement, comme l'on sait, du glyocolle ($25,5$), et des prolines (oxy-proline $14,1$; proline $9,5$); alanine $8,7$. La bande B_1 à $3\mu,25$ est déjà éloignée de la bande $3\mu,5$ du glyocolle; par contre elle coïncide avec la large bande à $3\mu,2$ de la proline et celle à 3μ de l'alanine. La bande B_2 à $3\mu,4$ est peut-être, elle, donnée par la bande $3\mu,5$ du glyocolle. Le contrefort à $4\mu,0$ de la gélatine semble dû à la bande $4\mu,0$ de la proline. La bande B_3 à $4\mu,5$ est celle du glyocolle $4\mu,5$. La bande à 5μ de la gélatine est peut-être assimilable à la petite bande $5\mu,1$ de la proline. La bande C_2 à $6\mu,2$ est la bande importante du glyocolle à $6\mu,1$ ainsi que de la proline à $6\mu,2$. La seconde bande à $6\mu,9$ est sans doute l'importante bande à $7\mu,1$ de la proline. La bande $7\mu,3$ est assimilable à la bande $7\mu,2$ de la proline. *Dans la gélatine le glyocolle transparaît d'une façon très importante.*

5) **Comparaison de la dicéto-pipérazine et du glyocolle.** — Il existe dans la dicéto-pipérazine un certain nombre de bandes non représentées dans le glyocolle: $6\mu,4$, $5\mu,0$ et qui peuvent être, en première approximation, considérées comme relevant de la

structure nouvelle. Il est intéressant de remarquer que la gélatine a une bande différenciée à 5μ . La bande C_2 à $6\mu,2$ de la gélatine possède un important contrefort sur $6\mu,4$, qui n'est pas visible tout au moins avec une importance aussi considérable dans

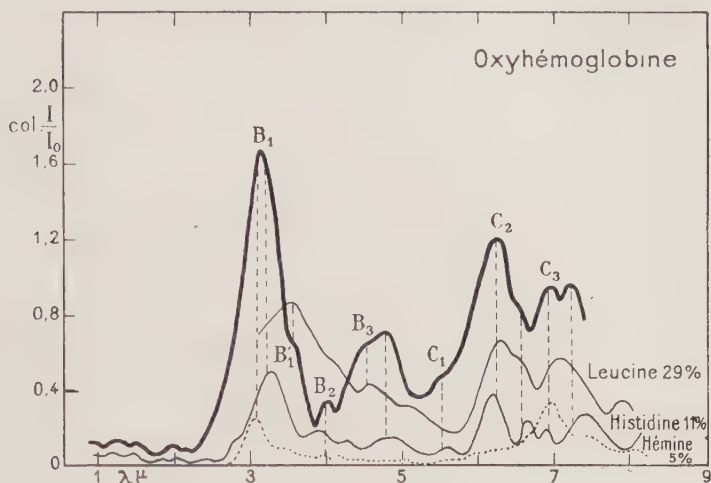


FIG. 47. — Comparaison qualitative du spectre de l'oxyhémoglobine avec ceux des acides aminés constitutifs et du groupement prosthétique.

la proline et dans le glyco-colle. Il semblerait donc que les éléments dicéto-pipéraziques soient notablement représentés dans la molécule de gélatine.

6) **Oxyhémoglobine** (fig. 47). — L'analyse est ici plus complexe, puisqu'à côté des constituants de la globine (leucine 29 %, histidine 11), il est indispensable d'introduire l'hématine (environ 5 %). Le spectre de l'hématine a été obtenu à partir d'une préparation de cristaux d'hémène de Cheval (fig. 38).

La grande bande à $3\mu,1$ de l'oxyhémoglobine est représentative de la bande $3\mu,2$ de l'histidine avec probablement une trace de la bande $3\mu,1$ de l'hématine, tandis que le contrefort B_1 $3\mu,6$ correspond, lui, à la leucine. La bande B_2 à $4\mu,0$ est aussi due principalement à l'histidine ($4\mu,0$), et le contrefort à $4\mu,5$ est peut-être la bande de la leucine à $4\mu,5$. La bande C_2 à $6\mu,2$ coïncide avec une bande de l'histidine ($6\mu,2$), et de la leucine ($6\mu,3$) (qui imprime plutôt le contrefort vers $6\mu,3-6\mu,4$). Quant à la bande C_3 ($7\mu,0$), on y reconnaît l'histidine ($7\mu,0$) tandis que le second élément à $7\mu,25$ peut correspondre à la leucine ($7\mu,2$). Quant au groupement prosthétique hématinique, dont

nous avons pris ici comme représentatif une hémine en milieu alcalin, il ne serait pas impossible qu'il intervint dans le contrefort B' à $3\mu,6$ de l'oxyhémoglobine, dans la bande B₂ à $4\mu,0$, le contrefort $6\mu,4$, et la bande $7\mu,0$. Il est difficile de préciser davantage, étant donné que les spectres d'hémine sont tous assez peu repré-

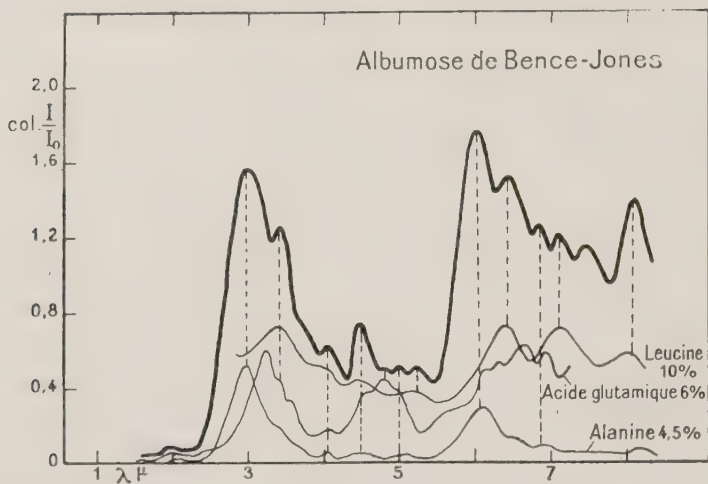


Fig. 48. — Comparaison qualitative du spectre de l'albumose de Bence-Jones avec ceux des acides aminés constitutifs.

sentatifs, et que le groupement prosthétique correspond à une très petite quantité. En somme l'hémoglobine, au point de vue infrarouge, est surtout une histidine.

7. **Albumine de Bence-Jones** (fig. 48) échantillon du D^r CHE CHAND). — D'après une analyse déjà ancienne d'ABDERHALDEN et ROSTOSKI (2) (1905), les constituants de l'albumose de BENCE-JONES seraient : leucine 10,6 ; acide glutamique 6 ; alanine 4,5 ; acide aspartique 4,5 ; les autres constituants (proline, tyrosine, glycocolle, phénylalanine, etc...) étant inférieurs à 2.

La comparaison avec le spectre de ces constituants montre que la bande à $2\mu,95$ de la Bence-Jones est due à l'alanine ($3\mu,0$) ; celle de $3\mu,7$ à la leucine ($3\mu,5$; $3\mu,7$) ; celle de $4\mu,1$ à la leucine ($4\mu,1$) et à l'acide glutamique ; il en est de même pour la bande de $4\mu,5$. La bande de $6\mu,1$ est due à l'alanine ($6\mu,1$) et à l'acide glutamique ($6\mu,1$). La bande de $6\mu,4$ provient de la leucine ($6\mu,3$) ; celle de $6\mu,8$, de l'acide glutamique ($6\mu,6$) ; celle de $7\mu,1$, composée de leucine ($7\mu,1$) et l'acide glutamique ($6\mu,95$) ; la bande $8\mu,1$ est celle de la leucine ($8\mu,1$).

L'acide aspartique, dont le spectre n'a pas été fait, n'a pas été tenu en compte dans ce bilan.

La Bence-Jones se présente donc au point de vue spectral comme étant surtout une leucine-acide glutamique.

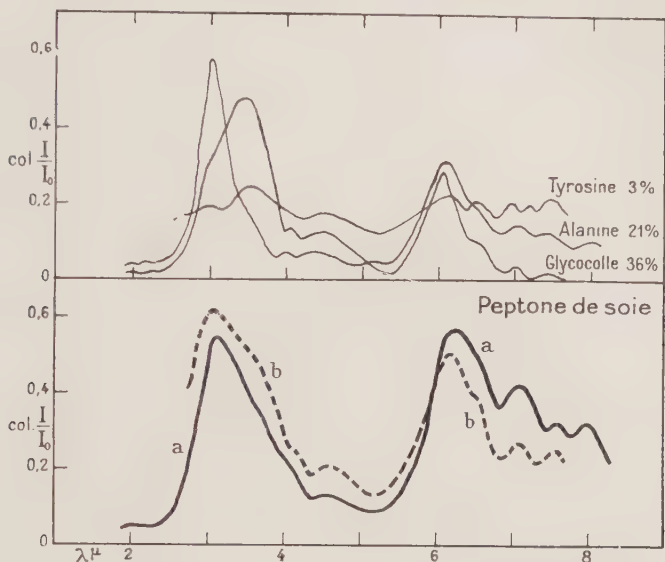


Fig. 49. — Comparaison qualitative du spectre de la peptone de soie avec ceux des acides aminés constitutifs.
(en haut : acides aminés constitutifs

en bas : Courbe a : spectre de la peptone de soie.

Courbe b : courbe synthétique obtenue par sommation des spectres de la tyrosine, de l'alanine et du glycocolle.

8) **Peptone de soie** (fig. 49). — On sait que cette substance est considérée comme un térapeptide (FISCHER et ABDERHALDEN 1907 (11)), composé de : glycocolle 2 molécules (36 % en poids) ; alanine, 1 molécule (21 %) ; tyrosine, 1 molécule (43 %). La simplicité de cette constitution peut permettre de serrer davantage l'analyse optique, en utilisant la constitution d'une courbe synthétique. La bande à $3\mu,1$ de la peptone est due à l'alanine ($3\mu,0$). Le contrefort écrasé entre 3 et 4μ contient la bande de la tyrosine ($3\mu,6$) et celle du glycocolle ($3\mu,5$). La petite bande à $4\mu,7$ superpose celles de la tyrosine ($4\mu,7$) et du glycocolle ($4\mu,5$) (et aussi de l'eau à $4\mu,75$). La grande bande de $6\mu,2$ est formée de celles de l'alanine ($6\mu,1$) (du glycocolle $6\mu,1$) et de la tyrosine ($6\mu,2$). Le contrefort à $6\mu,7$ est composé par la bande $6\mu,5$ de la tyrosine ($6\mu,7$), celles du glycocolle ($6\mu,6$) et de l'alanine. La bande $7\mu,1$ est commune au glycocolle ($7\mu,0$), à la tyrosine ($7\mu,0$)

et à l'alanine ($7\mu,6$). La bande $7\mu,6$ de même. Par contre la bande $7\mu,9$ ne paraît pas coïncider avec celle de l'alanine ($8\mu,2$).

Des autres peptones examinées, une seule (« albumose » de caséine) présente un contrefort de $3,5$ à 4μ comparable à celui de la peptone de soie ; les autres peptones (MERCK, WITTE-CIBA) ont une bande de $3\mu,2$ beaucoup plus aiguë. Il est donc possible que leurs proportions en glycocolle, par rapport à la tyrosine, soient changées. Ceci est d'accord avec le fait que ces deux peptones sont très riches en albumose, et par conséquent que la proportion de l'antigroupe de HOEMEISTER (glycocolle, etc.) y a été vraisemblablement inférieure à la proportion de l'hémigroupe (tyrosine, etc.).

V. — ETUDE QUANTITATIVE DU SPECTRE D'UNE PROTÉINE (SÉRUMALBUMINE)

Les recherches précédentes sont en somme pratiquement qualitatives ; mais nous avons tenté de pousser la recherche plus loin en effectuant une opération quantitative complète ; elle revient à reconstruire la courbe spectrophotométrique d'une protéine en sommant les absorptions des acides aminés constitutifs de celle-ci envisagés sous des états comparables ; c'est-à-dire que la protéine va être traitée à la manière d'un mélange exact d'acides aminés. Pour effectuer cette recherche, il a fallu engager de nouvelles déterminations des constantes d'absorption d'une substance protéique et de ses acides aminés. Pour des raisons de précision, nous avons choisi la sérumalbumine, dont nous avons déjà utilisé un bon échantillon (provenant du D^r PIETTRE, préparation à l'acétone).

Le spectre de la sérumalbumine a été obtenu à partir d'une lame sèche de 0 mm. 01 d'épaisseur. Les constantes d'absorption obtenues dans ces conditions ont été :

$$K.10^{-} ; \quad \frac{1}{a} = 3.7$$

λμ.	Sérum - albumine	Acides aminés constitutifs							Courbe calculée $\frac{\Sigma}{a}$
		Leucine	Lysine	Ac glu- tamique	Argi- nine	Cystine	Histi- dine	Ac. as- partique	
1.5	7	5	6	33	10	61	10	11	(29)
1.6	6	6	7	31	11	61	8	12	(28)
1.7	6	5	6	34	12	60	9	10	(27)
1.8	7	9	8	35	12	59	8	11	(29)
1.9	8	7	9	35	13	59	8	10	(30)
2.0	10	5	10	35	15	61	7	10	(30)
2.1	10	7	9	28	12	63	9	10	(28)
2.2	11	7	9	28	13	63	7	10	(28)
2.3	14	6	10	26	14	62	6	9	(30)
2.4	11	5	11	35	13	59	7	8	(32)
2.5	12	6	13	35	18	37	8	7	(30)
2.6	11	6	17	30	26	56	8	9	(33)
2.7	18	5	16	30	43	60	11	6	(35)
2.8	31	4	19	41	67	80	15	19	(44)
2.9	60	7	22	49	79	100	22	28	60
3.0	101	14	33	50	150	140	29	40	102
3.1	156	18	55	51	159	175	34	60	155
3.2	168	22	70	64	151	155	40	92	161
3.3	181	30	91	68	150	139	39	95	170
3.4	186	34	130	78	147	129	38	93	180
3.5	188	35	150	79	146	115	34	82	182
3.6	176	34	150	74	145	92	30	64	176
3.7	162	30	145	60	137	77	25	50	163
3.8	145	20	139	45	107	71	24	45	150
3.9	128	18	134	46	89	66	25	40	128
4.0	121	20	130	44	80	66	23	35	120
4.1	115	19	110	45	71	66	22	31	114
4.2	105	18	90	32	63	69	18	26	102
4.3	86	19	75	37	66	75	19	22	86
4.4	75	20	57	38	64	75	15	17	75
4.5	77	20	42	45	60	82	15	19	75
4.6	77	19	36	46	59	85	16	15	76
4.7	75	16	35	50	55	86	17	17	73
4.8	71	13	36	50	48	85	19	18	71
4.9	69	10	38	48	43	83	19	16	69
5.0	70	11	43	43	41	80	19	19	70
5.1	70	14	47	52	38	82	18	20	69
5.2	68	13	50	46	38	82	15	15	68
5.3	65	11	47	55	39	80	12	19	65
5.4	69	10	49	62	42	78	10	21	69
5.5	71	9	52	76	54	78	8	31	71
5.6	90	9	54	75	70	81	9	41	90
5.7	116	10	65	70	85	84	9	45	110
5.8	116	13	90	62	99	86	10	47	116
5.9	140	20	99	62	111	99	14	45	140
6.0	169	34	101	78	130	114	25	41	169
6.1	168	51	101	80	132	121	34	46	168
6.2	167	65	104	88	133	124	36	49	166
6.3	190	69	117	92	128	128	30	49	175
6.4	195	62	106	111	121	128	22	46	186
6.5	189	55	110	130	110	116	19	45	185
6.6	179	50	107	131	103	100	22	49	179
6.7	130	79	113	125	104	102	22	46	129
6.8	125	53	105	102	100	110	18	41	122
6.9	131	55	86	97	101	113	20	46	127
7.0	134	58	84	105	103	115	22	49	130
7.1	133	60	82	92	103	119	18	46	130
7.2	127	56	72	97	100	127	15	41	126
7.3	120	51	72	100	93	126	19	39	120
7.4	123	51	75	100	91	119	30	37	123
7.5	119	51	76	115	90	111	27	36	119
7.6	123	49	73	95	91	108	25	36	121

Les acides aminés constitutifs les plus importants, d'après les analyses de ABDERHALDEN (1) et MÖRNER (25) et les chiffres donnés dans le Traité de POLONOWSKI et LESPAGNOL (30), ont été en première approximation (sur 100 grs.) :

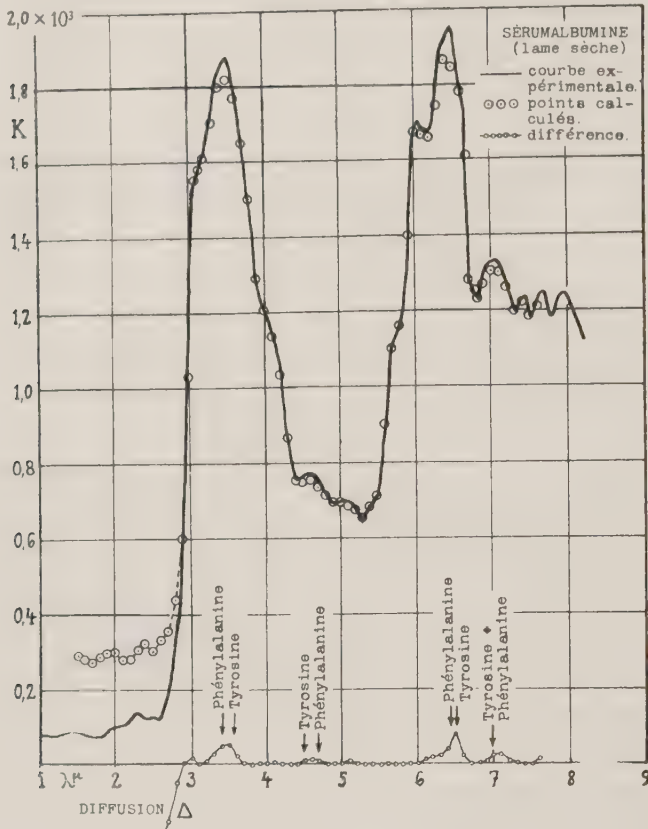


FIG. 50. — Spectre infrarouge de la sérumbumine (lampe sèche) et courbe synthétique $\odot \odot \odot$ calculée au moyen de la somme de sept acides aminés constitutifs

Leucine	20	Histidine	3,4
Lysine	13	Ac. aspartique	3,2
Ac. glutamique	8	(Phénylalanine	3,1)
Arginine	5	(Tyrosine	2,1)
Cystine	4		

Les constantes d'absorption de ces divers acides aminés ont dû également être déterminées sur lame sèche de 0 mm. 01 d'épaisseur. On a cru devoir rajouter l'absorption d'une petite quantité

d'eau (5,8 %), représentant l'estimation de ce que pouvaient représenter les traces de ce corps perceptibles dans les divers spectres.

Avec les sept premiers constituants ainsi définis (et l'eau) on a construit une courbe synthétique (fig. 50 $\Sigma Kq = f(\lambda)$ correspondant à l'intervalle spectral $1\mu,5$ à $7\mu,6$: c'est-à-dire qu'on a sommé les produits Kq obtenus à partir des huit éléments. La courbe obtenue étant en tout plus petite que la courbe expérimentale (ce qui n'est pas étonnant étant données les erreurs sur chacun des coefficients d'absorption), on a ramené proportionnellement la courbe calculée sur la courbe réelle pour $\lambda = 5,0 \mu$, c'est-à-dire que pour cette longueur d'onde on a déterminé le rapport :

$$\frac{\Sigma Kq \text{ calc.}}{K \text{ sérumalbumine}} = a,$$

et que tout le reste de la courbe calculée a eu ses ordonnées divisées par a . Cette méthode (nombre de transport de la courbe synthétique) a déjà été décrite par F. VLÈS et nous n'y insistons pas (49).

Dans ces conditions la courbe finale calculée se superpose d'une façon sensiblement complète à la courbe expérimentale, entre $2\mu,9$ et $7\mu,6$. Un désaccord progressif apparaît pour les longueurs d'onde inférieures à $2\mu,8$; mais il est essentiel de noter que certains des acides aminés employés en lame sèche ont été troubles, c'est-à-dire ont présenté un effet de diffusion s'exagérant vers les courtes longueurs d'onde ; il n'y a pas de doute que ce soit à cette cause qu'est dû le décalage de cette région.

Si l'on fait la différence entre la courbe expérimentale et la courbe calculée, pour mettre en évidence les petits écarts qui peuvent exister entre elles, on obtient une courbe presque rectiligne, montrant trois ou quatre petites dénivellations, dans lesquelles il est d'ailleurs facile de reconnaître des éléments de la phénylalanine et de la tyrosine, éléments venant immédiatement après les sept utilisés. On sait que le premier de ces acides correspondrait à 3 %, et le second à 2 %.

Nous arrivons donc ainsi par le calcul à une reconstitution sensiblement complète du spectre de la sérumalbumine, et l'on peut en somme considérer comme résolu le problème de la sommation des acides aminés constitutifs dans le spectre de cette protéine.

Cependant, il est intéressant de noter que le total des constituants envisagés (soit dix en y comprenant, avec l'eau, la phénylalanine et la tyrosine) ne représente que les 67 % du poids de la protéine totale. On doit donc conclure immédiatement que la

grosse portion dont il n'a pas été tenu compte n'est en situation d'intervenir spectralement que d'une façon secondaire dans la sommation. Deux possibilités peuvent ainsi être envisagées : soit que le total des éléments négligés arrive à constituer un ensemble peu sélectif en plateau, qui ne modifie pas par une différenciation localisée le gabarit de la courbe obtenue avec les premiers éléments ; soit au contraire que la portion absente ait partout une absorption proportionnelle au constitué, ce qui la ferait disparaître en la comprenant dans le nombre de transport empirique qui a servi à la réduction proportionnelle : l'opération revient en somme à perdre, dans l'analyse, une certaine quantité de la sérumalbumine initiale. On sait que l'analyse d'un protide par hydrolyse ne donne jamais 100 % des constituants, une perte plus ou moins grande s'effectuant aux dépens d'éléments disloqués jusqu'à forme gazeuse (CO_2 , NH_3 , etc.).

VI. — CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Dans les recherches précédentes nous venons de retrouver dans les protéines des éléments constitutifs, acides aminés et groupements atomiques fondamentaux. Jusqu'à quel point les données précédentes nous permettent-elles d'apporter un argument en faveur de telle ou telle des théories classiques sur la constitution des protéines ?

On sait que la littérature nous met en présence d'une demi-douzaine de théories représentant comment les acides aminés hydrolysés proviennent de la molécule protéique. Pour la théorie classique de FISCHER (12), etc., les acides aminés sont réunis par des liaisons peptidiques, et préexistent par conséquent dans la molécule protéique. Pour ABDERHALDEN (1 a), la structure fondamentale du protide est ramenée à l'existence de cycles dicétopipéraziques. Pour TROENSEGAARD (35), les acides aminés sont simplement le résidu de la dislocation de cycles dans lesquels l'anneau pyrrolique joue le rôle principal.

Le fait que les caractères particuliers des acides aminés constitutifs paraissent quelquefois si nettement dans le spectre infrarouge de la protéine totale, puisque l'on peut traiter celle-ci quantitativement comme si elle était un simple mélange, est, semble-t-il, un argument intéressant en faveur de la théorie peptidique de la molécule. Une constitution polycyclique du type TROENSEGAARD, où les acides aminés ne seraient pas préformés dans

la molécule, se comprendrait mal avec les données spectrales que nous avons étudiées plus haut.

D'autre part la comparaison du spectre des protéines avec le spectre du pyrrol tel que le donne COBLENTZ (7) ne montre rien qu'on pourrait considérer comme une exagération particulière de ce noyau, ainsi que l'admettrait la théorie de TROENSEGAARD.

On peut chercher enfin à repérer les cycles dicétopipéraziques en examinant si les bandes que les auteurs ont classiquement attribuées aux cétones, présentent une importance particulière : les deux bandes considérées comme les plus caractéristiques sont $5\mu,7$ et $6\mu,1$. Dans la sérumalbumine, il existe, comme nous l'avons vu, une bande à $6\mu,1$ assez importante, et une autre à $5\mu,7$ est admissible. Dans l'édestine, il y a un contrefort à $6\mu,1$ et un contrefort à $5\mu,7$; ce dernier est représenté aussi dans l'excelsine. Dans la caséine, il y a également un contrefort à $6\mu,1$, mais rien n'est nettement différencié sur $5\mu,7$. Dans l'oxyhémoglobine, on ne voit rien de particulier correspondant à $6\mu,1$; peut-être y a-t-il un léger contrefort sur $5\mu,6$. Pour la gélatine, nous avons effectivement une grande bande à $6\mu,1$ et un léger contrefort à $5\mu,7$. Mais il ne faut pas perdre de vue que cet argument est jusqu'à un certain point spécieux : on sait que, la série des bandes du carbonyle est pratiquement indistincte de la série du carboxyle et de celle de la fonction aldéhydique : on ne met en évidence, dans les trois séries, que le groupement commun $>C=O$; de sorte que l'interprétation de ces deux bandes comme supports du carbonyle est loin d'être exclusive. D'autre part, dans les limites de précision avec lesquelles on peut fixer les éléments constitutifs des bandes en question, rentrent aussi d'autres éléments admissibles dans les acides aminés et qui ne sont plus des carbonyles : ainsi la chaîne de $-\dot{C}-$ à $6\mu,0$ et la double liaison éthylénique à $6\mu,2$, ainsi qu'un oxhydrile, également à $6\mu,2$, et aussi un plus loin un $N\equiv$. A $5\mu,7$, à côté du carbonyle, existent un $S=$ et un OH . L'interprétation est donc dans tous les cas multivoque. Il nous semble donc pas possible de tirer un argument effectif de la présence fréquente des deux bandes classiques $5\mu,7$ et $6\mu,1$, dans les protéines en faveur de la présence de noyaux spécialement dicétopipéraziques.

La seule possibilité qui soit donc plus nettement présentée par les faits est en somme la liaison peptidique sous sa forme classique.

TROISIEME PARTIE

1. CONTRIBUTION A L'ETUDE DES RELATIONS ENTRE LES PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DES ÉLECTROLYTES ET LEUR SPECTRE D'ABSORPTION INFRAROUGE. ESSAI DE VÉRIFICATION DE LA FORMULE DE F. VLÈS $\lambda = \frac{21,2}{pK}$;

On sait que F. VLÈS a montré (40) (41) qu'il existe des relations entre les propriétés physico-chimiques des électrolytes et leur spectre d'absorption infrarouge, et a établi une formule permettant de relier ces deux domaines. Nous avons cherché si cette formule se vérifie encore pour les substances que nous avons étudiées.

Il est d'abord nécessaire de donner un résumé du raisonnement de M. VLÈS : les équilibres réversibles des électrolytes en solution dépendent de diverses variables d'activité pY (pH des solutions acido-alcalines, rH des solutions oxydo-réductrices, massivité des sels neutres). Pour chacune d'elles on peut toujours définir une loi des masses :

$$\frac{AY^a}{B} = 10^{-pK} \quad (1)$$

Pour chaque valeur de l'une de ces variables, la solution présente à l'équilibre vis-à-vis d'une électrode de référence identique une différence de potentiel de type :

$$E = - \frac{RT}{aF} pY + E_0 \quad (2)$$

E_0 étant la différence de potentiel d'un état standard (potentiel normal). Pour la demi-transformation de la valence ($A=B$), c'est-à-dire pour l'état (K), l'expression (2) devient :

$$E_0 - E_K = - \frac{RT}{aF} pK \quad (3)$$

En combinant (1) et (3), la loi des masses peut s'exprimer en fonction d'un travail électrique W , nécessaire pour passer de l'état (o) à l'état (K) :

$$\frac{AY^a}{B} = 10^{-\frac{a}{RT} (E_0 - E_k)} = 10^{-\frac{RT}{aW}} \quad (4)$$

D'autre part, le passage de l'état (o) à l'état (K) peut être représenté au moyen d'un schéma de niveaux énergétiques moléculaires, de façon que la mise en jeu de la demi-valence exige le déplacement de son électron de charge e depuis un niveau initial W'_0 jusqu'à un niveau final W'_k , c'est-à-dire nécessite une énergie :

$$W' = W'_0 - W'_k = e (E_0 - E_k) \quad (5)$$

Vlès fait remarquer que quel que soit le mécanisme envisagé dans la molécule, en tenant compte de ce que l'énergie W de la loi des masses est comptée en valences-grammes, mais celle W' du schéma atomique en valence d'un atome réel, on peut tenter de raccorder les deux opérations en posant $W = N W'$ (N constante d'AVOGADRO).

En supposant quantifiable l'énergie W' , $W' = h\nu$ la loi des masses devient :

$$\frac{AY^a}{B} = 10^{-\frac{a h N}{RT} \nu}$$

et en passant à la forme logarithmique usuelle :

$$a pY - \log \frac{A}{B} = \frac{a h N}{RT} \nu$$

d'où

$$\nu = \frac{RT}{hN} (pY - \frac{1}{a} \log \frac{A}{B})$$

et puisque par définition

$$pY - \frac{1}{a} \log \frac{A}{B} = pK$$

$$\nu = \frac{RT}{hN} pK \quad \text{ou} \quad \lambda = \frac{c h N c}{\nu RT} \frac{1}{pK}$$

(c , vitesse de la lumière).

En remplaçant h , N , c , R , par leurs valeurs usuelles pour la température de 20° , il vient la formule finale de VLÈS :

$$\lambda = \frac{21,2}{pK} \quad (6)$$

c'est-à-dire un corps donné de pK déterminé doit avoir une bande d'absorption exprimée en $\lambda\mu$ par $\lambda = \frac{21,2}{pK}$. L'expression (6) entraîne une interprétation particulière de diverses données spectrales des solutions. On sait en effet que plusieurs propriétés des solutions électrolytiques sont représentables à partir de relations d'additivité des pK ; il en est ainsi par exemple du pH du point d'équivalence e de la neutralisation d'un acide par une base, et du pH d'hydrolyse qui n'en est qu'un cas particulier :

$$e_q = \frac{pK_a + pK_c}{2}$$

D'autre part, le point isoélectrique des ampholytes est aussi une moyenne de pK :

$$pH_i = \frac{pK_A + pK_B}{2}$$

Or les fréquences d'absorption sont elles-mêmes additives, ainsi que le mettent en évidence les principes de combinaison utilisés dans le calcul des séries, et aussi le simple calcul énergétique à partir de la formule de PLANCK. On doit donc supposer que les relations additives de l'un des deux ordres de phénomènes doivent avoir des représentations dans l'autre.

Effectivement si $\nu_1 = M.pK_1$, et $\nu_2 = M.pK_2$, on a forcément :

$$\nu = \nu_1 + \nu_2 = M (pK_1 + pK_2) ;$$

d'autre part, en généralisant les relations additives, si $\nu = n \nu$, où n représente les nombres entiers successifs, on doit avoir également :

$$\nu = nM\Sigma pK, \text{ et : } \Sigma pK' = n \Sigma pK = \frac{M}{\nu} = C_{re},$$

c'est-à-dire rencontrer des relations du type des séries harmoniques entre les diverses constantes physico-chimiques, ou valeurs caractéristiques, d'un corps. D'une façon générale on pourra définir une série par :

$$\lambda = \frac{1}{n} \frac{21,2}{\Sigma pK}$$

Ainsi le point d'équivalence devrait correspondre à une bande d'absorption signalétique :

$$\lambda_e = \frac{21,2}{pK_1 + pK_2} = \frac{21,2}{2 \cdot c_{11}},$$

mais aussi à des multiples ou des sous-multiples, et en particulier à

$$\lambda'_e = \frac{21,2}{c_{11}}$$

D'autre part, pour les mêmes raisons, le point isoélectrique pH_i correspondrait également à des multiples ou sous-multiples entiers d'une bande d'absorption :

$$\lambda'_i = \frac{21,2}{pH_i}$$

Déjà M. VLÈS lui-même (41) (42) donnait un grand nombre de confirmations de sa formule.

Dans beaucoup de cas, nos spectres obtenus montrent, à côté des multiples de $\frac{21,2}{pK}$ (n entier > 1) certains sous-multiples n fractionnaire ($\frac{1}{2}$, $\frac{1}{3}$, etc.). Ce résultat indique que le terme $\lambda = \frac{21,2}{pK}$ n'est pas le terme fondamental de la série produite par le pK et que des termes supplémentaires s'introduisent entre les différents termes de la série $\lambda = \frac{21,2}{n \cdot pK}$ (n entier et fractionnaire).

En effet, une série spectrale étant définie par le fait que la différence des nombres d'onde entre deux termes consécutifs est constante, égal au nombre d'onde $\frac{1}{\lambda_F}$ du terme fondamental, en faisant la différence entre le nombre d'onde du dernier terme *observé* $\frac{1}{\lambda_m} = \frac{1}{m} \frac{21,2}{pK}$ ($n=m$ entier, dernier multiple du pK *observé*) et le nombre d'onde du terme *observé* avant lui $\frac{1}{\lambda_{m-1}}$, cette différence $\frac{1}{\lambda_{m-1}} - \frac{1}{\lambda_m}$ est, en faisant la différence de tous les termes successifs de $\frac{1}{\lambda} = \frac{1}{m} \frac{21,2}{pK}$, la plus petite, toutes les autres étant plus grandes, il doit donc nécessairement s'intercaler des termes supplémentaires entre les termes de la série $\frac{1}{\lambda} = \frac{1}{m} \frac{21,2}{pK}$.

Le nombre d'onde d'un de ces termes supplémentaires doit être un sous-multiple des nombres d'onde de tous les termes qui sont avant lui, par conséquent on obtiendra la série complète en additionnant au dernier terme observé $\frac{1}{\lambda_m} = \frac{1}{m} \frac{pK}{21,2}$ une suite de termes ayant comme base le plus petit commun multiple de tous les termes $\frac{1}{\lambda_n}$ avant lui ($n < m$). Soit M le plus petit commun multiple de tous les nombres de 1 à m, la série complète sera :

$$\frac{1}{\lambda} = \frac{1}{\lambda_m} + n \frac{1}{M} \frac{pK}{21,2}$$

c'est-à-dire

$$\frac{1}{\lambda} = \frac{1}{m} \frac{pK}{21,2} + n \frac{1}{M} \frac{pK}{21,2} \quad \dots \dots \dots (7)$$

série qui est de la forme

$$\frac{1}{\lambda} = \frac{1}{\lambda_m} + n A.$$

Ainsi par exemple, lorsque le dernier multiple de la bande correspondant à $\frac{1}{\lambda} = \frac{pK}{21,2}$ est égal à 2, (comme c'est le cas pour le pK_{H+} de la sérulalbumine, voir p. 83) l'expression (7) devient

$$\frac{1}{\lambda} = \frac{1}{2} \frac{pK}{21,2} + n \frac{1}{2} \frac{pK}{21,2}$$

ou encore

$$\frac{1}{\lambda} = \frac{1}{2} \frac{pK}{21,2} (1 + n)$$

Lorsque $n = 4$ (comme par exemple pour le pK_a de la sérulalbumine, voir p. 83) on aura :

$$\frac{1}{\lambda} = \frac{1}{4} \frac{pK}{21,2} + n \frac{1}{12} \frac{pK}{21,2}$$

ou encore

$$\frac{1}{\lambda} = \frac{1}{4} \frac{pK}{21,2} \left(1 + \frac{n}{3}\right)$$

Tous ces termes supplémentaires ont pu être mis en évidence dans nos spectres, comme le montrent les tableaux suivants, de façon que la mise en série donnée par la formule (7) s'est pleinement justifiée.

Dans les tableaux ci-après nous donnons pour chaque substance et pour les différents pK , les séries que nous avons trouvées et donnons pour chaque λ la valeur correspondante calculée et en face la valeur observée. Lorsque dans les spectres nous avons des sous-multiples $\frac{1}{m}$ des pK nous avons appliqué la formule (7), une

colonne spéciale donne les valeurs pour m . Lorsque les sous-multiples $\frac{1}{m}$ n'ont pu être observés parce qu'ils tombaient en dehors des λ étudiés, on a employé la formule de VLÈS $\frac{1}{\lambda} = n \frac{pK}{21,2}$ (n entiers), une colonne spéciale indique également les différentes valeurs de n (1).

Substance	Forme de la série en $\frac{1}{\lambda}$	m	n	Multiples des pH_i et des pK	$\lambda_{calc.}$	$\lambda_{obs.}$	Observations
SÉRUMALBUMINE (Fig. 7)	$741.10^{-3} (1 + \frac{n}{2})$	3	0	$pH_i = 4,7$			Valeurs des pK d'après Miss LLOYD.
			1	$\frac{1}{3}$	13,5	13,5	
			2	$\frac{1}{2}$	9,0	9,0	
			3		6,75	6,8	
			4	1	5,41	5,4	
			5		4,50	4,5	
			6		3,86	—	
			7		3,38	3,4-3,5	
			8		2,99	3,0	
			9		2,70	—	
			10	2	2,45	2,5	
			11		2,25	2,25	
	$755.10^{-3} (1 + \frac{n}{3})$	4	0	$pK_a = 6,10$			Valeurs comprises dans la grande bande de sommet 3,5 μ
			1	$\frac{1}{4}$	13,24	—	
			2	$\frac{1}{3}$	9,94	9,9	
			3		7,95	7,9	
			4	$\frac{1}{2}$	6,62	6,6	
			5		5,68	5,7	
			6		4,98	5,0	
			7		4,42	—	
			8		3,92	4,0	
			9	1	3,62	—	
			10		3,31	3,3	
			11		3,06	3,1	
	$101.10^{-3} (1+n)$	2	0	$pK_{b1} = 4,3$			Valeurs comprises dans la grande bande de sommet 3,5 μ
			1	$\frac{1}{2}$	2,84	—	
			2		2,65	—	
			3		2,49	2,51	
			4		2,36	2,3	
	$78.10^{-3} (1+n)$	2	0	$pK_{b2} = 3,3$			Comprise dans la grande bande à 3,5 μ
			1	$\frac{1}{2}$	9,9	9,0	
			2		4,93	5,0	
			3		3,3	—	
			4		2,48	2,5	
			5		1,92	2,0	
		2	0				Comprise dans la grande bande à 3,5 μ
			1		12,84	12,9	
			2		6,42	6,45	
			3		4,27	4,2	
			4		3,25	—	
			5		2,56	2,5	
			6		2,14	2,1	

(1) Sur chacune des figures des courbes spectrales nous avons indiqué, en bas, les séries sous la forme $n.pH_i$ ou $n.pK$.

Substance	Forme de la série en $\frac{1}{\lambda}$	m	n	Multiples des pH_i	λ calc.	λ obs.	Détermination des pH_i
Excelsine. (Fig. 8)	$\frac{n \text{ } pH_i}{21.2}$	—	—	$pH_i = 4,4$ 1 2 3	4,8 2,4 1,2	4,8 2,4 1,2	
Gaséine. (Fig. 11)	$\frac{n \text{ } pH_i}{21.2}$			$pH_i = 4,7$ 1 2	4,50 2,25	4,5 2,25	P. RONA et R. MICHAELIS.
Oxyhémo- globine.... (Fig. 12)	$159 \cdot 10^{-3} (1+n)$	2	0 1 2 3 4	$pH_i = 6,75$ $\frac{1}{2}$ 1 2 2	6,3 3,15 2,10 1,57 1,26	6,3 3,1 2,1 1,6 1,3	MICHAELIS et DAVIDSON.
Edestine. (Fig. 9)	$160 \cdot 10^{-3} (1+n)$	2	0 1 2 3 4 5	$pH_i = 6,8$ $\frac{1}{2}$ 1 2 2 3	6,24 3,12 2,08 1,56 1,25 1,04	6,3 3,1 2,0 1,6 1,2 1,0	MICHAELIS et DAVIDSON.

Gélatine isoélectrique.

Pour la gélatine isoélectrique nous donnons le tableau de correspondance, page 55. Nous avons pour cette substance pu mettre en évidence les 12 premiers termes de la série (m de 0 à 11). La deuxième partie du tableau forme la suite de cette série dans l'ultraviolet dont il sera question plus loin.

Le **blanc d'œuf** donne le tableau suivant :

pH_i	Multiples du pH_i	λ calc.	λ obs.	Détermination du pH_i
4,8	1	4,4	4,4	LOEB-SØRENSEN
	2	2,2	2,2	

Sérums de sangs humains (fig. 19, 20 et 21).

La cataphorèse (F. VLÈS et S. KREIMER) (46) du sérum dont le spectre est donné par la fig. 19 courbe *a* donnait un point singulier⁽¹⁾ à 7,7, qui pourrait donner une bande d'absorption à $\frac{21,2}{7,7} = 2,8 \mu$. En effet à 2,8 μ nous voyons apparaître dans le spectre un contrefort. Des multiples et des sous-multiples correspondent à des bandes également. La cataphorèse du sérum (fig. 19, courbe *b*) donnait deux points iso-électriques et un point singulier qui correspondent à des bandes d'absorption, il en est de même pour les autres sérums (fig. 21), la correspondance est indiquée dans le tableau ci-dessous.

	Multiples des pH _i	λ calc.	λ obs.		Multiples des pH _i	λ calc.	λ obs.
Fig. 19 courbe <i>a</i>	1/2 PS PS = 7,7 2 PS	1,4 2,8 5,6	1,4 2,8 5,6	Fig. 20 courbe <i>b</i>	1/3 pHi 1/2 pHi pHi 2 pHi	7,5 5,0 2,5 1,25	7,5 5,0 2,5 1,2
Fig. 19 courbe <i>b</i>	1/2 pHi 1 pHi = 9,5 pHi 2 pHi 1/2 PS PS	4,4 2,2 6,05 3,0 7,6 3,8	4,4 2,2 6,05 3,0 7,5 3,8	Fig. 21 courbe <i>a</i>	1/2 pHi pHi 2 pHi 1/3 pHi 1/2 pHi pHi	6,4 3,2 1,6 7,2 4,8 2,4	6,4 3,2 1,6 7,2 4,8 2,4
Fig. 19 courbe <i>c</i>	1/2 pHi pHi 2 pHi 1/2 pHi pHi 2 pHi	8,0 4,0 2,0 6,1 3,05 1,5	8,0 4,0 2,0 6,1 3,1 1,5	Fig. 21 courbe <i>b</i>	1/2 pHi pHi 2 pHi	7,4 3,7 1,85	7,4 3,7 1,8
Fig. 20 courbe <i>a</i>	1/2 pHi pHi 1/3 pHi 1/2 pHi pHi 2 pHi	6,5 3,25 6,9 4,6 2,3 1,15	6,5 3,25 6,9 4,6 2,3 1,15	Fig. 21 courbe <i>c</i>	pHi 2 pHi	4,90 2,45	4,95 2,45

(1) « Un « point singulier » peut être considéré comme une sorte de point isoélectrique ou de point neutre rudimentaires, partiellement masqués parce qu'on se trouve dans un mélange où il y a, outre la substance qui possède le point isoélectrique, une autre substance, qui présenterait seule au même niveau un transport unilatéral. » (F. VLÈS et A. de COULON, *Arch. Phys. biol.* IV, 47, 1924.)

Acides aminés. — Les pk et les points iso-électriques des acides aminés ont donné des séries qui sont représentées avec leurs correspondances dans les tableaux suivants.

Substance	Forme de la série en $\frac{1}{\lambda}$	m	n	Multiples des pH _i et des pK	λ calc	λ obs.	Observations
GLYCOCOLLE (Fig. 22)	$143.10^{-3}(1+n)$	2	0	pH _i = 6,08			En dehors des λ étudiés.
			1	1/2	6,96	7,0	
			1	1	3,48	3,5	
			2		2,32	—	
			3	2	1,76	1,8-1,9	
	$n.pK_a$ 21,2	2	1	pK _a = 9,64	2,49	2,45	
			2	2	1,08	1,05	
	$n.pK_b$ 21,2	2	1	pK _b = 2,33	9,4	—	
			2		4,55	4,5	
			3		3,03	3,0	
			4		2,27	—	
			5		1,82	1,8-1,9	
			6		1,51	1,5	
			10		0,910	0,910	
<i>d</i> -l-ALANINE (Fig. 24)	$145.10^{-3}(1+n)$	2	0	pH _i = 6,04			En dehors des λ étudiés.
			1	1/2	6,88	6,9	
			1	1	3,44	3,5	
			2		2,3	—	
			3	2	1,72	1,75(?)	
	$n.pK_a$ 21,2	2	4		1,42	1,4	
			5	3	1,14	1,0-1,15	
	$n.pK_b$ 21,2	2	1	pK _a = 9,70	2,48	2,5	
			2	2	1,09	1,0-1,15	
			1	pK _b = 2,33	9,4	—	
			2		4,55	4,5	
			3		3,03	3,1	
			4		2,27	—	
			5		1,82	—	
			6		1,51	1,5	
			7		1,30	1,3	
			8		1,13	1,1	
			9		1,10	1,1	
			10		0,910	0,910	

Substance	Forme de la série en $\frac{1}{\lambda}$	m	n	Multiples des pH _i et des pK	λ calc.	λ obs	Observations
L-LEUCINE (Fig. 25)	$142 \cdot 10^{-3} (1+n)$	2	0	pH _i = 6,00			En dehors des λ étudiés.
			1	1/2	7,06	7,4	
			2	1	3,53	3,55	
			3		3,07	3,0	
			4	2	1,76	1,75	
			5		1,41	1,2-1,4	
			6	3	1,17	1,2-1,4	
	$227 \cdot 10^{-3} (1+n)$	2	7	4	1,01	1,0	
			8		0,88	0,88	
			9	pK _a = 9,60			
			10	1/2	4,4	4,4-4,5	
			11	1	2,2	2,1-2,3	
			12		1,49	1,5-1,6	
			13	2	1,1	0,95-1,15	
			14		0,88	0,88	
	$\frac{n \cdot pK_b}{21,2}$		15	pK _b = 2,36	9,0	—	
			16	1	4,5	4,5	
			17	2	3,0	3,0	
			18	3	2,25	2,2	
			19	4	1,7	1,8	
			20	5	1,50	1,6	
			21	6	1,28	1,3	
			22	7	1,12	1,1	
			23	8	1,0	1,0	
			24	9			
ACIDE d- GLUTAMI- QUE (Fig. 26)	$\frac{n \cdot pHi}{21,2}$		1	pH _i = 3,2			En dehors des λ étudiés.
			2	1	6,9	7,0	
			3	2	3,45	3,5	
	$\frac{n \cdot pK_{a1}}{21,2}$		4	pK _{a1} = 4,22	5,0	5,1	
			5	1	2,50	2,50	
			6	2			
			7	pK _{a2} = 9,60			
	$152 \cdot 10^{-3} (1 + \frac{n}{2})$	3	8	1/3	6,6	6,6	
			9		4,39	4,35	
			10	1/2	3,29	3,25	
			11		2,63	2,6	
			12	1	2,2	2,2	
			13		1,88	1,85	
			14		1,64	1,3-1,6	
			15		1,46	1,3-1,6	
	$\frac{n \cdot pK_b}{21,2}$		16	pK _b = 2,1	9,86	—	
			17	1	4,93	4,8	
			18	2	3,28	3,25	
			19	3	2,46	2,5	
			20	4	1,99	1,9	
			21	5	1,64	1,6	
			22	6	1,41	1,5	

Substance	Forme de la série en $\frac{1}{\lambda}$	m	n	Multiples des pH _i et des pK	λ calc.	λ obs.	Observations
ACIDE ASPARTIQUE (Fig. 28)	$\frac{n.pH_i}{21,2}$			pH _i = 2,8			
		1	1		7,56	7,6	
		2	2		3,78	3,8	
		3	3		2,52	2,6	
		4	4		1,89	1,9	
		5	5		1,51	1,6	
		6	6		1,26	1,3	
		7	7		1,08	1,1	
		8	8		0,945	0,950	
		9	9		0,840	0,85	
	$\frac{n.pK_{a1}}{21,2}$			pK _{a1} = 3,70			
		1	1		5,72	5,7	
		2	2		2,86	2,85	
		3	3		1,90	1,9	
		4	4		1,43	1,4	
		5	5		1,12	1,1-1,3	
		6	6		0,953	0,960	
		7	7		0,817	0,815	
	$\frac{n.pK_{a2}}{21,2}$			pK _{a2} = 9,70			
		1	1		2,18	2,0-2,3	
		2	2		1,09	1,0-1,05	
	$\frac{n.pK_b}{21,2}$			pK _b = 2,0			
		1	1		10,6	—	En dehors des λ étudiés
		2	2		5,30	5,3	
		3	3		3,53	—	
		4	4		2,60	2,6	
		5	5		2,12	2,0-2,3	
		6	6		1,76	—	
		7	7		1,51	1,5	
		8	8		1,32	1,3	
		9	9		1,17	1,1-1,3	
		10	10		1,06	1,0-1,05	
		11	11		0,963	0,960	
		12	12		0,883	0,880	
		13	13		0,815	0,815	

Substance	Forme de la série $\frac{1}{\lambda}$	m	n	Multiples des pK_i et et des pK	λ calc.	λ obs.	Observations	
ARGININE (Fig. 29)	$213 \cdot 10^{-3} (1+n)$	2	0	$pH_i = 9,0$				
			1	$1/2$	4,70 2,35	4,6-4,8 2,2-2,3		
		2	0	$pK_a = 9,7$				
			1	$1/2$	4,36	4,3		
			2	1	2,18	2,2-2,3		
	3		2	1,46	1,45			
	4			1,09	1,0			
	5		3	0,874	0,875			
	5		3	0,726	0,725			
	1		$pK_{b1}=2,17$	9,77	—			
	2		2	4,88	5,0			
	3		3	3,26	3,3			
	4		4	2,44	—			
	5		5	1,97	2,0			
	6		6	1,63	—			
	7		7	1,42	—			
	8		8	1,22	1,3			
	9		9	1,08	1,1			
	10		10	0,977	0,970			
	11		11	0,88	0,880			
	12		12	0,810	0,810			
	3	1	$pK_{b2} = 8,3$	7,63	7,6			
		2	$1/2$	5,10	5,1			
		3		3,82	—			
		4		3,06	3,1	} Comprise dans la grande bande à 3 μ		
		5	1	2,54	—			
		6		2,18	2,2-2,3			
		7		1,91	2,0			
$\frac{n \cdot pK_{b1}}{21,2}$								
$131 \cdot 10^{-3} (1+\frac{n}{2})$								

Comprise dans
la grande bande
à 3μ

Substance	Forme de la série en $\frac{1}{\lambda}$	m	n	Multiples des pHi et des pK	λ calc.	λ obs.	Observations
d-LYSINE (Fig. 30)	$156.10^{-3} (1 + \frac{n}{2})$			pHi = 9,9			
				1/3	6,42	6,3	} Comprise dans la grande bande à 3,0 μ
				1/2	4,28	—	
					3,24	—	
					2,56	2,6	
				1	2,14	2,15	
					1,83	1,9	
					1,6	1,5-1,6	
				2	1,07	1,1	
				3	0,743	0,745	
	$167.10^{-3} (1 + \frac{n}{2})$			pKa = 10,52			
				1/3	6,0	6,0	
				1/2	4,0	4,0	
					2,99	—	
					2,40	—	
				1	2,0	2,0	
					1,71	1,7	
					1,5	1,5-1,6	
				2	1,1	1,1	
	$153.10^{-3} (1 + \frac{n}{2})$			pK _{b1} = 9,7			} Comprise dans la grande bande à 3,0 μ
				1/3	6,54	6,5	
				1/2	4,36	—	
					3,27	—	
				1	2,62	2,6	
				2	2,18	2,15	
	$\frac{n \cdot pK_{b2}}{21,2}$				1,09	1,0-1,3	
				pK _{b2} = 2,0			} En dehors des λ étudiés
				1	10,6	—	
				2	5,3	5,25	
				3	3,53	3,55	
				4	2,65	2,6	
				5	2,12	2,2	
				6	1,76	1,75	
				7	1,54	1,50	
				8	1,32	—	
				9	1,17	1,15	
				10	1,06	1,0	
				11	0,944	—	
				12	0,900	0,900	

Substance	Forme de la série en $\frac{1}{\lambda}$	m	n	Multiples des pH_i et des pK	λ calc.	λ obs.	Observations
PROLINE (Fig. 31)	$149.10^{-3} (1+n)$	2	0	$pH_i = 6,3$	6,72	6,7	En dehors des λ étudiés.
			1	$\frac{1}{2}$	3,36	3,35	
			2	1	2,24	2,2	
	$126.10^{-3} (1+\frac{n}{3})$	4	0	$pK_a = 10,6$	7,96	7,95	
			1	$\frac{1}{4}$	5,97	6,1	
			2	$\frac{1}{3}$	4,76	4,5-4,7	
			3	$\frac{1}{2}$	3,98	4,0	
			4		3,44	3,5	
			5		2,98	3,0	
			6		2,72	2,7	
			7		2,38	2,4	
			8		2,16	2,15	
			9	1	1,99	2,0	
	$\frac{n \cdot pK_b}{21,2}$		1	$pK_b = 2,0$	1,06	—	
			2	1	5,35	5,25	
			3	2	3,53	3,55	
			4	3	2,65	2,7	
			5	4	2,12	2,15	
			6	5	1,76	1,75	
			7	6	1,51	1,5	
			8	7	1,32	1,3	
PHENYL- ALANINE (Fig. 32)	$\frac{n \cdot pH_i}{21,2}$		1	$pH_i = 5,4$	3,9	3,8-3,9	En dehors des λ étudiés.
			2	1	1,95	1,9	
	$\frac{n \cdot pK_a}{21,2}$		1	$pK_a = 9,13$	13,2	—	
			2	1	6,51	6,5	
			3	2	4,4	4,4-4,6	
			4	3	3,25	3,25	
			5	4	2,64	2,6	
				5			

Substance	Forme de la série en $\frac{1}{\lambda}$	m	n	Multiples des p <i>H</i> _i et des p <i>K</i>	λ calc.	λ obs.	Observations
TYROSINE (Fig. 33)	$135 \cdot 10^{-3} (1+n)$	2	0	p <i>H</i> _i = 5,7 1 2 1	7,4 3,7	7,5 3,7	
			1				
				p <i>K</i> _{a1} = 9,16			
	$145 \cdot 10^{-3} (1+\frac{n}{2})$	3	0	1/3	6,9	7,0	
			1	1/2	4,6	4,6	
			2		3,45	3,5	
	$250 \cdot 10^{-3} (1+n)$	2	0	p <i>K</i> _{a2} = 10,16 1/3	8,0	8,1	
			1	1/2	4,0	4,0	
			1	1	2,0	—	
	$\frac{npK_b}{21,2}$	1		p <i>K</i> _b = 2,23			
			1		9,5	—	
			2	1	4,75	4,7	
HISTIDINE (Fig. 34)	$224 \cdot 10^{-3} (1+n)$	2	1	p <i>H</i> _i = 7,75 1	2,73	2,7	
			2		1,49	1,5	
			3		1,12	1,1	
	$148 \cdot 10^{-3} (1+\frac{n}{2})$	3		p <i>K</i> _a = 9,41			
			0	1/3	6,76	6,7	
			1	1/2	4,50	—	
			2		3,50	3,5	
			3		2,70	2,7	
			4	1	2,25	2,2	
			5		1,99	—	
			6		1,69	1,7	
			7		1,50	1,5	
	$144 \cdot 10^{-3} (1+n)$	2		p <i>K</i> _{b1} = 6,07			
			1		7,0	7,0	
			2	1	3,49	3,4—3,5	
			3		2,31	—	
	$\frac{n \cdot pK_b}{21,2}$	1	4		2,10	2,10	
				p <i>K</i> _{a2} = 1,46			
			1	1	14,5	—	
			2	2	7,25	7,4	
			3	3	4,83	4,8	
			4	4	3,62	3,6	
			5	5	2,9	2,9	
			6	6	2,44	2,4	
			7	7	2,07	2,1	

En dehors des
 λ étudiés

Substance	Forme de la série en $\frac{1}{\lambda}$	m	n	Multiples des p <i>H</i> _i et des p <i>K</i>	λ calc.	λ obs.	Observations
<i>l</i> -CYSTEINE (Fig. 35)	$\frac{n \cdot pH_i}{21,2}$		1	p <i>H</i> _i = 4,1			
				1	5,16	5,15	
				p <i>K</i> _{a2} = 7,48			
	$176 \cdot 10^{-6} (1+n)$	2	0	1/2	5,68	5,7	
				1	2,84	2,8	
				p <i>K</i> _{a2} = 9,02			
	$142 \cdot 10^{-3} (1+\frac{n}{2})$	3	0	1/3	7,0	6,9	
				1/2	6,13	6,1	
					3,52	3,5	
					2,82	—	
	$\frac{n \cdot pK_b}{21,2}$			1	2,35	2,3	
				p <i>K</i> _b = 1,7			
		4	1		12,5	—	En dehors des λ étudiés
		2	2		6,25	6,3	
		3	3		4,17	—	
		4	4		3,12	3,1	
CYSTEINE (Fig. 36)	$\frac{n \cdot pH_i}{21,2}$		1	p <i>H</i> _i = 5,0			
				1	4,2	4,0—4,5	
			2	2	2,1	2,05—2,3	
	$192 \cdot 10^{-3} (1+n)$			p <i>K</i> _{a1} = 8,14			
		2	0	1/2	5,2	5,0—5,2	
				1	2,6	2,6	
	$244 \cdot 10^{-3} (1+n)$			p <i>K</i> _{a2} = 10,35			
		2	0	1/2	4,1	4,0—4,5	
				1	2,05	2,05—2,3	
	$\frac{n \cdot pK_b}{21,2}$			p <i>K</i> _b = 1,95			
		4	1		10,0	—	En dehors des λ étudiés
		2	2		5,0	5,0—5,2	
		3	3		3,33	3,3	
		4	4		2,25	2,05—2,3	

On voit que pour tous les protéides étudiés et pour tous les acides aminés nous avons une excellente vérification de la formule $\lambda = \frac{21,2}{pK}$. De même dans tous les cas nous avons pu montrer l'existence des bandes d'absorption formées par les multiples et les sous-multiples des différents pK .

Chaque fois que des bandes correspondaient à des sous-multiples des pK , nous avons pu montrer que ces bandes correspondent à des séries de la forme générale $\frac{1}{\lambda} = \frac{1}{\lambda_m} + n A$.

Autres substances. — Nous avons de même étudié les spectres d'absorption de l'hydroxylamine et de l'hydrazine en vue de la vérification de la formule $\lambda = \frac{21,2}{pK}$, et là encore la concordance est parfaite.

Les bandes de l'hydroxylamine (chlorhydrate) correspondant aux multiples et sous-multiples du pK_b peuvent également se mettre sous forme de série du genre $\frac{1}{\lambda} = \frac{1}{21,2} (1 + n)$.

Le tableau ci-dessous donne la correspondance entre les bandes calculées et les bandes observées.

$m = 2$	n	$\lambda_{calc.}$	$\lambda_{obs.}$	Multiples du $pK_b = 6,0$
	0	7,06	7,4	1/2
	1	3,53	3,5	1
	2	2,35	2,35	
	3	1,76	1,7	2
	4	1,41	—	
	5	1,17	1,15	3
	6	1,01	1,0	
	7	0,88	0,88	4
	9	0,706	0,700	5

Le chlorhydrate d'hydrazine vérifie également la formule de VLÈS comme le montre le tableau ci-contre. Nous avons trouvé en outre deux sous-multiples du pK de façon que $m = 3$, et la forme de la série est :

$$\frac{1}{\lambda} = 200.10^{-3} \left(1 + \frac{n}{2} \right)$$

m = 3	n	$\lambda_{\text{calc.}}$	$\lambda_{\text{obs.}}$	Multiples du $pK_b = 2,47$
	0	7,41	7,45	1/3
	1	4,94	4,9	1/2
	4	2,47	2,5	1
	5	2,12	2,1	
	10	1,23	1,25	2
	16	0,823	0,825	3

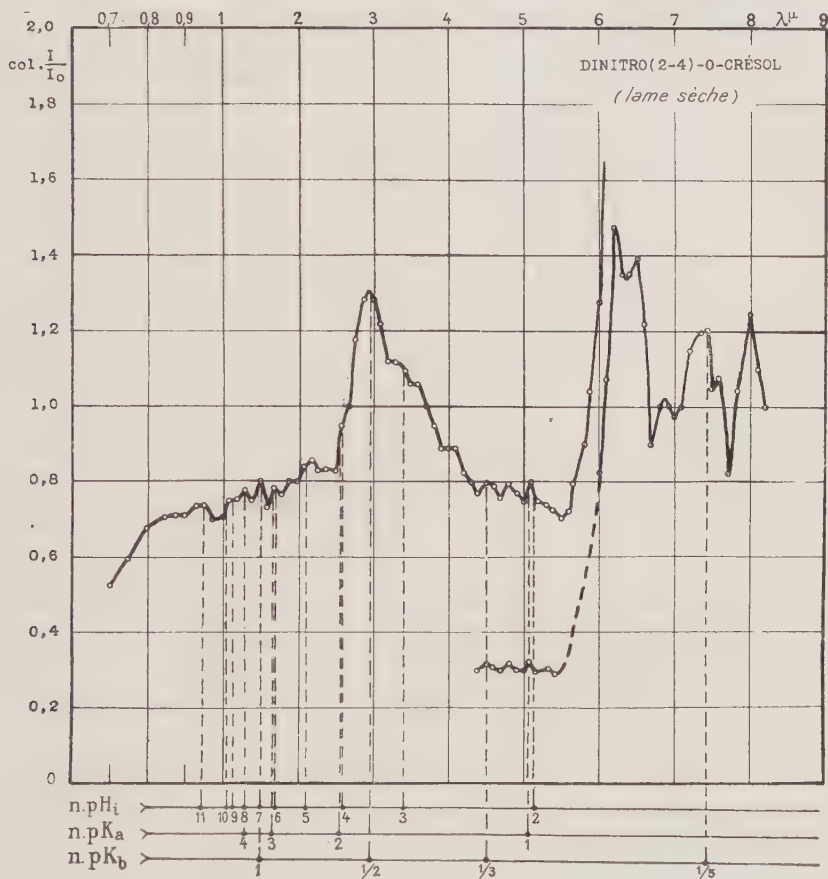


FIG. 51. — Spectre d'absorption infrarouge du dinitro (2-4)-o-crésol.

Finalement pour voir si la formule $\lambda = \frac{2I,2}{pK}$ est encore applicable à un corps de structure toute différente de ceux étudiés jusqu'à présent nous avons choisi du *dinitrocrésol*. M. MOLNAR

(ing. I. C. S.) nous a confié un échantillon de dinitro(2,4)-o-crésol préparé et purifié par lui-même, échantillon présentant dans l'ultraviolet une bande du groupement NO_2 sur $380 \text{ m}\mu$. Nous avons fondu ce corps (point de fusion $85^\circ 5$) entre deux lames de mica. La lame cristalline ainsi obtenue avait une épaisseur inférieure à $0,02$ millimètre. Le spectre, à partir de 6μ a été obtenu avec une lame plus mince.

Le dinitro (2,4)-o-crésol a un spectre infrarouge à bandes extrêmement nombreuses (fig. 51). On sait que MOLNAR a montré (24), par l'étude du transport électrique et du spectre ultra-violet que les phénols nitrés deviennent cations en pH extrêmement bas; on peut par conséquent définir pour eux un pK_b et un pH_i ; en particulier pour le dinitrophénol (2-4), ce point isoélectrique est vu au transport isoélectrique à pH 1,9 et le pK_b correspond à $-0,1$. Pour le dinitro (2-4)-o-crésol les valeurs indiquées par MOLNAR (inédit) sont: $\text{pK}_a = 4,2$ (fonction phénolique), $\text{pK}_b = -0,1$; $\text{pH}_i = 2,05$. Dans ces conditions le tableau suivant donne la correspondance entre les pK , le pH_i et les bandes d'absorption.

$\lambda_{\text{calc.}}$	$\lambda_{\text{obs.}}$	$\lambda_{\text{calc.}}$	$\lambda_{\text{obs.}}$
1 $\text{pK}_a = 4,2$	5,05	$\text{pH}_i = 2,05$	10,35
2 pK_a	2,52	2 pH_i	5,17
3 pK_a	1,68	3 pH_i	3,45
4 pK_a	1,26	4 pH_i	2,58
		5 pH_i	2,07
		6 pH_i	1,72
1/5 pK_b	7,45	7 pH_i	1,48
1/4 pK_b	5,96	8 pH_i	1,29
1/3 pK_b	4,47	9 pH_i	1,15
1/2 pK_b	2,98	10 pH_i	1,03
$\text{pK}_b = 14,24$	1,49	11 pH_i	0,949
			0,95

Nous avons ici une concordance très précise vu que les bandes sont extrêmement nombreuses, mais les pK et leurs multiples ou sous-multiples tombent toujours exactement sur les sommets des bandes et jamais dans les creux; font seulement exception les bandes correspondant aux pK_a et à 2 pH_i , c'est-à-dire les bandes $5,05$ et $5,17 \mu$; le spectrographe ne séparant pas ces deux bandes, nous trouvons un seul sommet correspondant à $5,1$, c'est-à-dire au milieu entre $5,05$ et $5,17 \mu$.

II. — MISE EN SÉRIE DES BANDES ET SPECTRE ULTRAVIOLET DE QUELQUES SUBSTANCES PROTÉIQUES

Déjà V. HENRI (19) avait énoncé des lois générales de l'absorption des rayons infrarouges et ultraviolets. Première loi : « Les fréquences des bandes d'absorption ultraviolettes sont des multiples entiers des fréquences d'absorption infrarouges. »

Deuxième loi : « Les corps qui possèdent plusieurs bandes infrarouges possèdent plusieurs bandes ultraviolettes dont les fréquences sont égales au même multiple entier des fréquences des bandes infrarouges. »

Le problème que nous envisageons dans la suite diffère de celui de V. HENRI, en ce sens que nous partons de séries expérimentales infrarouges qui doivent, au point de vue du calcul, avoir des suites dans le visible et dans l'ultraviolet. Le problème était de montrer l'existence réelle de ces suites de séries.

Les termes des séries si on les poursuit jusque dans l'ultraviolet, se rapprochent d'autant plus qu'on s'éloigne de l'infrarouge. Lorsqu'on tente alors de les mettre en évidence on constate qu'ils sont tellement rapprochés que seule une étude de structure fine dans l'ultraviolet pourrait les déceler.

Or pour certaines de nos substances, notamment pour quelques substances protéiques, F. VLÈS et M. PRAGER (44) puis COULTER, STONE et KABAT (10) ont étudié la structure fine des bandes ultraviolettes ; il nous était donc possible de voir si nos séries des points isoélectriques pouvaient se poursuivre jusque dans l'ultraviolet. Les tableaux suivants donnent la concordance entre les bandes ainsi calculées et les bandes observées par VLÈS et PRAGER. Pour le calcul nous avons pris comme point de départ le premier ou le deuxième sous-multiples de la bande correspondant au point isoélectrique, c'est-à-dire des séries de la forme :

$$\frac{1}{\lambda} = \frac{1}{n} \frac{pH_i}{21,2} \left(1 + \frac{n}{m-1} \right)$$

avec $m = 2$ ou 3 . Les mêmes relations ont été examinées pour les pK .

Les tableaux suivants montrent la correspondance entre les λ calculés et observés.

SÉRUMALBUMINE

pK	Forme de la série en $\frac{1}{\lambda}$	m	n	Multiples des pH _i et des pK	$\lambda_{calc.}$	$\lambda_{obs.}$	$\Delta(m\mu)$	
pH ₁ = 4,7	$111,10^{-3} (1 + n)$	2	0	1/2	9,0	9,0		I.R.
			1	1	4,50	4,5		
			2		3,03	3,0		
			3	2	2,25	2,25		
			30		0,291	0,290	+ 1,0	U.V.
			31	16	0,282	0,2835	- 1,5	
			32		0,273	0,274	- 1,0	
			33	17	0,2647	0,2645	+ 0,2	
			34		0,258	0,258	0	
			35	18	0,251	0,252	- 1,0	
pK _a = 6,40	$96,1.10^{-3} (1 + \frac{n}{2})$	3	0	1/3	10,4	10,5		I.R.
			1	1/2	6,94	7,0		
			2		5,21	5,3		
			3		4,17	4,2		
			4		3,47	3,5		U.V.
			71	12	0,2906	0,290	+ 0,6	
			72		0,2820	0,2835	- 1,5	
			73		0,2780	0,278	- 0,8	
			74		0,2738	0,274	- 0,2	
			75		0,2701	—		
			76	13	0,2670	0,268	- 1,0	
			77		0,2636	0,2645	- 0,4	
			78		0,2600	0,261	- 0,1	
			79		0,2570	0,258	- 1,0	
			80		0,2538	0,252	+ 1,8	
pK _{b₁} = 4,3	$101.10^{-3} (1 + n)$	2	0	1/2	9,9	10,0		I.R.
			1	1	4,93	5,0		
			2	2	3,3	—		
			3	3	2,48	2,5		
			4	4	1,98	2,0		U.V.
			33	17	0,2900	0,290	0	
			34		0,2817	0,2835	- 1,8	
			35	18	0,2740	0,274	0	
			36		0,2664	0,268	- 1,6	
			37	19	0,2590	0,258	+ 1,0	
			38		0,2528	0,252	+ 0,8	
pK _{b₂} = 3,3	$78,0.10^{-3} (1 + n)$	2	0	1/2	12,84	12,9		I.R.
			1	1	6,42	6,45		
			2	2	4,27	4,2		
			3	3	3,25	—		
			4	4	2,56	2,5		U.V.
			43	22	0,2918	0,290	+ 1,8	
			44		0,2853	0,2835	+ 1,8	
			45	23	0,2791	0,278	+ 1,1	
			46		0,2732	0,274	- 0,8	
			47	24	0,2675	0,268	- 0,5	
			48		0,262	0,261	+ 1,0	
			49	25	0,256	0,258	- 2,0	
			50		0,2513	0,252	- 0,7	

CASÉINE

$$\frac{1}{\lambda} = 111.0^{-3} (1 + n) ; m=2$$

n	Multiples des pH_i	$\lambda_{calc.}$	$\lambda_{obs.}$	Δ (m μ)	
1	1	4,50	4,5		I. R.
2	2	2,25	2,25		
30		0,291	0,290	+ 1,0	U. V.
31	16	0,282	0,2825	— 1,5	
32		0,273	0,275	— 2,0	
33	17	0,2647	0,264	+ 0,7	
34		0,258	0,2575	+ 0,5	
35	18	0,251	0,2522	+ 1,5	

BLANC D'OEUF

$$\frac{1}{\lambda} = 113,7.10^{-3} (1 + n) ; m = 2.$$

n	Multiples des pH_i	$\lambda_{calc.}$	$\lambda_{obs.}$	Δ (m μ)	
1	1	4,4	4,4		I. R.
2	2	2,2	2,2		
29	15	292,0	290,5	+ 1,5	U. V.
30		282,0	281	+ 1,2	
31	16	274,2	(274)	+ 0,2	
32		266,0	264,5	+ 1,5	
33	17	258,5	258,5	0	
34		251,0	252	— 1,0	

Nous obtenons donc une concordance entre nos bandes calculées et celles trouvées par VLÈS et PRAGER, surtout pour la sérûm-albumine. Notons que c'est le même échantillon de sérûm-albumine (PIETTRE) qui a servi à VLÈS et PRAGER et à nous-mêmes. L'écart entre les λ observés et les λ calculés est de 2,0 m μ au maximum et de 0,7 m μ en moyenne. Les valeurs des λ sont données par VLÈS et PRAGER avec une précision de $\pm$ 0,3 m μ . VLÈS et PRAGER (44) ont encore étudié la structure fine ultra-violetle d'un *sérûm de sang humain* dont un des points isoélec-

triques ($\text{pH}_{i\beta}$), déterminé par cataphorèse est égal à 8,7. D'après la formule de VLÈS $\lambda = \frac{3.21,2}{\text{pK}}$, à ce point isoélectrique correspond une bande d'absorption à 2,43 μ . VLÈS et PRAGER donnent des bandes à 0,289, 0,284, 0,275, 0,273, 0,268, 0,264, 0,258 et 0,252 μ . Nous avons cherché si nous retrouvions encore ces bandes par une série de la forme de l'équation (2), et nous avons choisi comme point de départ la bande $\lambda = \frac{3.21,2}{\text{pH}_i} = \frac{3.21,2}{2,43}$, c'est-à-dire une série de la forme :

$$\frac{r}{\lambda} = \frac{3.21,2}{2,43} \left(1 + \frac{n}{2}\right) = 137.10^{-3} \left(1 + \frac{n}{2}\right)$$

donc $m = 3$.

Le tableau suivant donne la concordance :

n	λ calc.	λ obs.	Δ (m μ)	Multiplies du pH_i
49	287	289	— 2	9
0	281	284	— 3	
51	275	275	0	
52	270	268	+ 2	
53	265	264	+ 1	
54	261			
55	256	258	— 2	
56	252	252	0	

Dans ce cas la concordance entre les λ calculés et les λ observés est un peu moins bonne que pour les protides précédents. Ce résultat provient très probablement du fait que le sérum possède un deuxième point isoélectrique α (déterminé par cataphorèse : en dehors de l'échelle des pH utilisée) qui donne également naissance à une série, et qui peut fournir dans l'ultraviolet des termes très voisins des termes correspondants au point isoélectrique β .

Nous avons pu suivre la série des bandes du point isoélectrique de la gélatine isoélectrique (LOEB) jusque dans l'ultraviolet. Nous comparerons nos valeurs calculées avec celles données par COULTER, STONE et KABAT (10).

GÉLATINE ISOÉLECTRIQUE

$$\text{pH}_i = 4,7 ; m = 2 ; \frac{1}{\lambda} = 111.10^{-3}(1+n)$$

n	Multiples du pH _i	λ calc.	λ obs.	Δ (mμ)	
0	1,2	9,02	9,1		
1	1	4,50	4,50		
2		3,03	3,0		
3	2	2,25	2,25		
4		1,80	1,8		
5	3	1,50	1,5		
6		1,30	1,3		
7	4	1,13	1,15		
8		1,00	1,00		
9	5	0,900	0,900		
10		0,820	0,820		
11	6	0,752	0,750		
31	16	0,282	0,2839	— 1,9	
32		0,273	0,2745	— 1,5	
33	17	0,2647	0,2644	+ 0,3	
34		0,258	0,2584	— 0,4	
35	18	0,251	0,2529	+ 1,9	

I. R.

U. V.

On peut se demander si ces données sont spéciales aux protides et si on peut les trouver en dehors de celles-ci. Nous avons essayé à cet effet de mettre en évidence les séries du spectre du benzène. VLÈS et GEX (39) ont donné des pK du benzène déterminés en partant de considérations optiques (spectre ultraviolet) et VLÈS a montré (42) que les quatre premiers pK appartiennent à la série de $\dot{\text{C}}^-$. Les valeurs des pK avec les longueurs d'onde auxquelles ceux-ci correspondent sont indiquées dans le tableau ci-contre :

	pK ₁	pK ₂	pK ₃	pK ₄
pK	1,73	3,18	6,31	8,71
λ ^μ	12,2	6,67	3,36	2,43

Les tableaux suivants rendent compte des résultats. Nous voyons que nous trouvons pour les pK et leurs multiples des séries ayant de nombreux termes dans l'infrarouge et dans l'ultraviolet et que la concordance entre les valeurs calculées et trouvées peut être qualifiée comme intéressante. L'erreur moyenne surtout pour le début et le moyen ultraviolet est inférieure à 1 mμ, ce qui laisse entendre que le raisonnement donné précédemment est exact.

BENZÈNE

Forme de la série	n	λ calc.	λ obs.	Δ (m μ)	
$pK_1 = \frac{21,2}{n \cdot pK_1}$ $= \frac{21,2}{n \cdot 173}$ $= \frac{12,2}{n}$	1	12,2	12,1		$\left. \begin{array}{l} \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \end{array} \right\} \text{I. R.}$
	2	6,1	6,1		
	3	4,07			
	4	3,05	3,1		
	5	2,44	2,49		
	6	2,03	2,05		
	7	1,74	1,74		
	8	1,52	—		
	9	1,35	1,33		
	10	1,22	1,215		
	11	1,11	—		
	12	1,01	1,03		
	46	0,2654	0,264	+ 1,4	$\left. \begin{array}{l} \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \end{array} \right\} \text{U. V.}$
	47	0,2595	0,258	+ 1,5	
	48	0,2541	0,2552	— 1,1	
	49	0,2490	0,2492	— 0,2	
	50	0,2440	0,2445	— 0,5	
	51	0,2392	0,2394	— 0,2	
	52	0,2346	0,2340	+ 0,6	
	53	0,2301	0,2290	+ 0,9	
	59	0,2067	0,2068	— 0,1	
	60	0,2033	0,2034	— 0,1	
	61	0,2000	—		
	62	0,1968	0,1978	— 1,0	
$pK_2 = \frac{21,2}{n \cdot pK_2}$ $= \frac{2,12}{n \cdot 3,18}$ $= \frac{6,7}{n}$	1	6,7	6,7		$\left. \begin{array}{l} \\ \\ \\ \\ \end{array} \right\} \text{I. R.}$
	2	3,33	3,25		
	3	2,26	2,3		
	4	1,66	1,66		
	5	1,33	1,33		
	25	0,2668	0,2691	— 2,3	$\left. \begin{array}{l} \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \end{array} \right\} \text{U. V.}$
	26	0,2565	0,2552	+ 1,3	
	27	0,2433	0,2436	— 0,3	
	28	0,2282	0,2384	— 0,1	
	29	0,2300	0,2292	+ 0,8	
	32	0,2084	0,2068	— 2,4	
	33	0,2021	0,2034	— 1,3	
	34	0,1960	0,1978	— 1,8	

BENZÈNE (suite)

Forme de la série	Multiple du pK	n	λ calc.	λ obs.	Δ (m μ)	
$\frac{1}{\lambda} = 99,2 \cdot 10^{-2} \left(1 + \frac{m}{2}\right)$ pK_3 $m = 3$	1/3	0	10,1	10,2		I R.
	1/2	1	6,72	6,7		
		2	5,05	5,1		
	1	3	4,03	—		
		4	3,36	3,38		
		5	2,88	2,8		
		6	2,52	2,52		
		7	2,24	—		
		8	2,02	2,05		
		9	1,83	1,85		
	2	10	1,68	1,66		
		11	1,55	—		
		12	1,44	1,47		
		13	1,37	1,39		
		14	1,26	—		
	3	15	1,19	1,21		
		16	1,12	1,14		
		17	1,06	1,03		
	4	73	0,2690	0,2691	— 0,1	U. V.
		74	0,2650	0,2640	+ 1,0	
		75	0,2622	0,2611	+ 1,1	
		76	0,2585	0,2580	+ 0,5	
		77	0,2548	0,2552	— 0,4	
		78	0,2517	0,2510	+ 0,7	
		80	0,2465	—		
		81	0,2435	0,2436	— 0,1	
		82	0,2400	0,2396	+ 0,4	
		83	0,2377	0,2384	— 0,7	
		84	0,2345	0,2310	+ 0,5	
		96	0,2059	0,2068	— 0,9	
		97	0,2036	0,2034	+ 0,2	
		98	0,202	—		
		99	0,1993	0,1978	+ 1,5	

Le tableau suivant rend compte de la correspondance entre les multiples du quatrième pK donné par VLÈS et GEX et les bandes d'absorption infrarouges données par COBLENTZ (7) :

	n	λ calc	λ obs.
$\lambda = n \cdot 2,43$	1	2,43	2,49
	2	4,86	4,9
	3	7,29	7,3
	4	9,72	7,8
	5	12,15	12,1

Ces multiples étant des termes de la série de $\dot{C}$ doivent contenir des termes communs avec les multiples de pK_1 qui sont

également des termes de la série de $-\zeta$ -; en effet $5 pK_4$ correspond à $\lambda = 12,15$, ce qui est la bande d'absorption correspondant au pK_1 ($\lambda = 12,2$). Donc la correspondance entre les multiples de pK_1 et les bandes ultraviolettes est également valable pour le pK_1 .

On voit donc que pour nos substances étudiées (sérumalbumine, gélatine, caséine, blanc d'œuf, sérum de sang, de même pour le benzène) il y a une excellente concordance entre les bandes ultraviolettes réelles et nos bandes calculées.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

La *première partie* de ce travail expose la *Technique*. Elle contient la *description des appareils* qui nous ont servi à mesurer les spectres : spectrographe, pile thermoélectrique, galvanomètre, cuves, appareil enregistreur, sources de radiations — dont une nouvelle, construite suivant nos indications — ; la *marche des opérations* et le *contrôle du dispositif* par l'étude de la loi de LAMBERT pour le mica et le verre.

La *deuxième partie* donne la description d'une série de spectres d'absorption infrarouges de protéines (sérumalbumine, excelsine, edestine, gélatine, caséine, oxyhémoglobine), de quatre polypeptides, d'acides aminés (glycocolle, alanine, leucine, acide glutamique, acide aspartique, arginine, lysine, proline, phénylalanine, tyrosine, histidine, cystine et cystéine), puis de quelques substances auxiliaires (dicétopipérazine, hématine, acide pyroglutamique, hydroxylamine, hydrazine, cholestérols, dinitro (2-4)-o-crésol). Toutes ces substances (à l'exception de la gélatine jusqu'à 8 μ) n'avaient jamais été étudiées avant nous, au point de vue de leur spectre d'absorption infrarouge. Nos spectres s'étendent jusqu'environ 8 μ et pour quelques substances jusqu'à 14 μ .

La structure spectrale de ces substances ayant été définie, nous avons cherché à interpréter la structure spectrale des protéines à partir du spectre de leurs acides aminés de constitution. Cette recherche nous a amené à une reconnaissance qualitative et quantitative des acides aminés constitutifs dans le spectre des protéides, fait qui semble être en concordance avec la théorie peptidique des protéines (FISCHER).

Dans la *troisième partie* nous avons cherché si les bandes d'absorption de nos spectres pouvaient être mises en relation avec les propriétés physico-chimiques des substances étudiées.

Nous avons pu montrer que la formule de M. VLÈS $\lambda = \frac{21,2}{pK}$ et les relations sériales établies par lui, se trouvent confirmées *sans exception* et avons pu donner une formule plus complète des séries du type $\frac{1}{\lambda} = \frac{i}{\lambda_m} + n A$. Ces séries peuvent se poursuivre jusqu' dans l'ultraviolet.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) ABDERHALDEN (E.). — *Ztschr. f. physikal. Chemie*, 37, 495, 1902 et 46, 194, 1905.
- (1a) ABDERHALDEN (E.). — *Ztschr. f. physikal. Chemie*, 139, 181, 1924.
- (2) ABDERHALDEN (E.) et ROSTOSKI. — *Ztschr. f. physiol. Chemie*, 45, 125, 1905.
- (3) ASCHKINASS (E.). — « Ueber das Absorptionspektrum des flüssigen Wassers und über die Durchlässigkeit der Augenmedien für rote und ultrarote Strahlen. » *Wied. Ann. d. Phys.* 55, 401, 1895.
- (4) BARNES (R.B.). — « The infrared absorption of some organic liquids under high solution. » *Phys. Rev.*, 36, 303, 1930.
- (5) CARTWIGH (Ch.). — « Infrared transmission of the flesh. » *Journ. Optic. Soc. America*, 20, 81, 1930.
- (6) SCUDDER. — « Conductivity and ionisation constants. » Van Nostrand, New-York, 1914.
- (7) COBLENTZ (W.W.). — « Investigation of Infrared-Red spectra. » *Carneg. Inst. Washington*, Publ. 35.
- (8) COBLENTZ (W.W.). — « Radiometric investigation of Water of Crystallisation, light filters, and standard absorption bands. » *Carneg. Inst. Washington* Publ.
- (9) COHN (E.J.). — *Physiological Review*, p. 349, 1925.
- (10) COULTER (B.), STONE (F.M.), KABAT (E.P.). — « The structure of the ultraviolet absorption spectra of certain Proteins and amins acids. » *Journ. of. Gen. Physiol.*, 19, 739, 1936.
- (11) FISCHER (E.) et ABDERHALDEN (E.). — *Sitzungsber. d. Kgl. Preuss. Akad. d. Wissensch*, 30, 574, 1907.
- (12) FISCHER (E.). — Recherches sur les acides aminés, les polypeptides et les protéines. Conférence à la Société chimique allemande, 6 janv. 1906. *Moniteur scientifique de Quesneville*, 20, 473, 1906.
- (13) FREYMAN (M^{mo}) et RUMPF (P.). — « Spectres d'absorption dans le proche infrarouge d'amines et d'amides. Emploi du phénomène de dissimulation pour la recherche des ions amphotères. » *C.R.*, 201, 606, 1935.
- (14) GAERTNER (O.). — *Strahlentherapie*, 40, 377, 1931.
- (15) GIGON (A.). — « Organdifferenzierungen mit Ultrarot. » *Verhandl. d. deutsch. Gesellsch. f. inn. Med.*, 41, 160, 1929.
- (15 bis) HARTRIDGE H. et A. V. HULL. — « The infra-red absorption bands of haemoglobin. » *Journ. of Physiol.*, 48. li. 1914.
- (16) HEINTZ (E.). — « Spectre infrarouge d'acides aminés et de polypeptides. » *C. R.*, 201, 1478, 1935.
- (17) HEINTZ (E.). — « Nouvelle lampe pour la spectroscopie infrarouge. » *C. R. Réunion. Phys. biol. de Strasbourg*, n^{os} 28-29 (*Arch. Phys. biol.*, XIII, 360, 1936).

- (18) HENRI (V.). — « Etude des spectres d'absorption et de fluorescence du Benzène ». *Journ. Phys. et Rad.*, 3, 181, 1922.
- (19) HENRI (V.). — « Etudes de Potochimie ». Gauthier-Villars, Paris, 1919.
- (20) KAKU (S. K.). — « Infrared transmission of living tissues ». *Arch. Phys. Therapy.*, 14, 225, 1933.
- (21) KICK (P. L.), and SCHMIDT (C. L. A.). — « The apparent dissociation constants of the amino-acids and certain related substances : a summary of the data ». *Publ. Univ. of California (Physiol.)* 7, VI, 57, 1929.
- (22) KOSSEL et PLATTEN. — *Zeitschr. f. physiol. Chemie*, 38, 39, 1903.
- (23) LOONEY (J. M.). — *Journ. of. biol. chem.*, 69, 519, 1926.
- (24) MOLNAR (J.). — « Recherches spectrales et physico-chimiques sur les phénols nitrés ». Thèse, Paris, 1936.
- (25) MÖRNER. — *Ztschr. f. physiol. Chem.*, 34, 207, 1901.
- (26) OSBORNE (T. B.) et LIDDLE (L. M.). — *Amer. Journ. of Physiol.* 26, 295, 1910.
- (26 a) OSBORNE (T. B.) et CLAPP. — *Amer. Journ. of Physiol.*, 19, 53, 1907.
- (26 b) OSBORNE (T. B.) et HARRIS. — *Journ. of the Amer. Chem. Soc.*, 25, 323, 1903.
- (27) PAULI (W. E.) et IVANCERIE (I.). — « Untersuchungen über das Absorptionsvermögen der Haut im langwelligen Gebiet des Spektrums ». *Strahlentherapie*, 25, 532, 1927.
- (28) PAULI (W. E.). — « Über künstlich vergrößerte Durchlässigkeit der tierischen und menschlichen Haut für den langwelligen Teil des Spektrums ». *Strahlentherapie*, 25, 547, 1927.
- (29) PEARSON (A. R.) and NORRIS. — The transmission of I. R. through the horny layer of human skin. *Brit. J. Radiol.*, 6, 480, 1933.
- (30) POLONOWSKI (M.) et LESPAGNOL (A.). — « Eléments de chimie organique biologique ». Paris, Masson et C^{ie}, 1934.
- (31) RÜCKER (F.). — « Durchlässigkeit tierischer Gewebe im Ultrarot ». *Arch. f. d. ges. Physiologie*, 231, 742, 1933.
- (32) RÜTTEN (E.). — *Zs. f. Phys.*, 60, 1, 1930.
- (33) SCHULZE (E.) et WINTERSTEIN (E.). — *Ztschr. f. physiol. Chemie*, 33, 547, 1901.
- (34) SPIEGEL-ADOLF (M.). — « Die Globuline ». Theodor Steinkopf, Dresden u. Leipzig, 1930.
- (35) TROENSEGAARD (N.). — *Zeitschr. Phys. Chem.*, 62, 86, 1921; 73, 137, 1923; 83, 116, 1924. *Ztschr. f. angewandte Chem.*, 38, 623, 1925.
- (36) VICKERY (H. B.) et OSBORNE (T. B.). — « A Review of hypotheses on the structure of proteins ». *Physiol. Rev.*, 8, 383, 1928.
- (37) VLÈS (F.) et COULON (A. de). — « Recherches sur les propriétés physico-chimiques des tissus en relation avec l'état normal et pathologique de l'organisme ». *Arch. Phys. biol.*, VI, 28, 1927; VII, p. 4 et 14, 1928.
- (38) VLÈS (F.) et COHN (Ch.). — « Recherches sur les propriétés optiques de la gélatine ». *Arch. Phys. biol.*, V, 48, 1926.
- (39) VLÈS (F.) et GEX (M.). — « Sur les modifications spectrales des corps organiques dépendant du pH, et sur la représentation mathématique des fonctions qui relient les rapports d'absorption au pH ». *Arch. Phys. biol.*, VI, 69, 1927.

- (40) VLÈS (F.). — « Sur une propriété spectrale des électrolytes en solution ». *C. R.*, 200, 545, 1935.
- (41) VLÈS (F.). — « Notes sur les propriétés physico-chimiques des électrolytes. — I. Sur les relations entre les propriétés physico-chimiques et spectrales des électrolytes ». *Arch. phys. biol.*, XII, 57, 1935.
- (42) VLÈS (F.). — « Recherches sur les propriétés physico-chimiques des électrolytes. — II. L'interprétation des relations entre les constantes électrochimiques, le spectre infrarouge et les propriétés réactionnelles ». *Arch. Phys. biol.*, XIII, 88, 1936.
- (43) VLÈS (F.) et HEINTZ (E.). — « Spectre infrarouge des substances protéiques ». *C. R.*, 200, 1927, 1935.
- (44) VLÈS (F.) et PRAGER (M.). — « Sur la structure spectrale ultraviolette de certaines substances protéiques ». *Arch. Phys. biol.*, X, 1, 1932.
- (45) VLÈS (F.). — « Notes sur l'analyse spectrale 1936 » (sous presse). Cf : *C. R. Réun. Phys. biol. de Strasbourg*, 29 nov. 1935 (*Arch. Phys. biol.*, XIII, 107, 1936).
- (46) VLÈS (F.). — « Mesures effectuées sur les points isoélectriques des sérums pathologiques à l'Institut de Physique biologique (1929-1936) ». *Arch. Phys. biol.*, XIII, 13, 1936.
- (47) VLÈS (F.) et HEINTZ (E.). — « Sur l'interprétation du spectre infrarouge des protéines ». *C. R.*, 204, 567, 1937.
- (48) VLÈS (F.) et HEINTZ (E.). — « Sur l'interprétation du spectre infrarouge des protéines ». *Arch. Phys. biol.*, 1937 (sous presse).
- (49) VLÈS (F.). — « Le spectre ultraviolet des urines et son utilisation analytique ». *Arch. Phys. biol.*, XII, 207, 1935.
- (50) VLÈS (F.) et VELLINGER (E.). — « Recherches sur les propriétés optiques de la Gélatine ». *Arch. Phys. biol.*, V, 8, 1926.

TABLE DES MATIÈRES

PRÉFACE	5
INTRODUCTION	6

PREMIÈRE PARTIE

INSTRUMENTS ET METHODES

1) Spectromètre	8
2) Appareil récepteur	9
3) Galvanomètre	10
4) Source de radiations	11
5) Cuves	12
6) Etude des solides	14
7) Appareil enregistreur	14
8) Marche des opérations	14
9) Lecture du cliché photographique	14
10) Corrections	14
11) Précision sur la position des bandes d'absorption dans les différentes régions spectrales	15
12) Contrôle du réglage du dispositif	16

DEUXIÈME PARTIE

LES SPECTRES DES PROTIDES

I. Historique	17
II. Définition et classification des protides	18
III. Description des spectres	21
A. PROTÉINES.	
1) Sérumbalbumine	21
2) Excelsine	24
3) Edestine	25
4) Gélatine isoélectrique	26
5) Caséine	28
6) Oxyhémoglobine	28

B. POLYPEPTIDES.

1) Peptone de Witte-Ciba	30
2) Peptone de soie	31
3) Peptone de Merck	32
4) Albumose de caséine	32
5) Albumose de Bence-Jones	33

C. SUBSTANCES BIOLOGIQUES NATURELLES.

1) Blanc d'œuf	34
2) Sérums de sang humain	34

D. ACIDES AMINÉS.

1) Glycocolle	38
2) Alanine	41
3) Leucine	43
4) Acide glutamique	45
Acide pyroglutamique	45
5) Acide aspartique	47
6) Arginine	48
7) Lysine	50
8) Proline	51
9) Phénylalanine	52
10) Tyrosine	53
11) Histidine	54
12) Cystine	55
13) Cystéine	56

E. SUBSTANCES AUXILIAIRES.

1) Dicétopipérazine	58
2) Hématine	59
3) Hydroxylamine	60
4) Hydrazine	61
5) Cholestérol	63

IV. Comparaison qualitative du spectre des protéines avec celui des acides aminés constitutifs.

1) Sérumalbumine	64
2) Globulines	66
3) Caséine	68
4) Gélatine	68
5) Comparaison de la dicétopipérazine et du glycocolle	68
6) Oxyhémoglobine	69
7) Albumine de Bence-Jones	70
8) Peptone de soie	71

V. Etude quantitative du spectre d'une protéine (sérum-albumine)

72

VI. Conclusions générales

76

TROISIÈME PARTIE

I. Contribution à l'étude des relations entre les propriétés physico-chimiques des électrolytes et leur spectre d'absorption infrarouge. Essai de vérification de la formule de F. Vlès $\lambda = \frac{21,2}{pK}$	78
II. Mise en série des bandes et spectre ultraviolet de quelques substances protéiques	97
RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS	105
BIBLIOGRAPHIE	107

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

L'Etude des Flammes sensibles au son

Vu et approuvé :

Paris, le 21 Juin 1937.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Ch. MAURAIN.

Vu et permis d'imprimer.

LE RECTEUR

DE L'ACADÉMIE DE PARIS,

S. CHARLETY

